

GRAZIELLI DA ROCHA

**Determinação do teor de biodiesel no petrodiesel
através da RMN em baixo campo, aliada a
calibração multivariada.**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Química, da Universidade Federal
do Paraná, como requisito parcial
à obtenção do título de Mestre em
Química.

Orientador: Prof. Dr. Andersson
Barison.

Curitiba

2013

R672d

Rocha, Grazielli da

Determinação do teor de biodiesel no petrodiesel através da RMN em baixo campo, aliada a calibração multivariada / Grazielli da Rocha. – Curitiba, 2013. 112f. : il. [algumas color.] ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-graduação em Química, 2013.

Orientador: Andersson

Barison. Bibliografia: p. 106-112.

1. Petrodiesel. 2. Biodiesel. 3. Controle de Qualidade. I. Universidade Federal do Paraná. II. Barison, Andersson. III. Título.

CDD: 665.538

TERMO DE APROVAÇÃO

**DETERMINAÇÃO DO TEOR DE BIODIESEL NO PETRODIESEL, ATRAVÉS DA RMN
EM BAIXO CAMPO ALIADA À CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA**

por

GRAZIELLI DA ROCHA

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,
pela Comissão Examinadora composta por:

Orientador:



Prof. Dr. Anderson Barison
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Luiz Alberto Colnago
Embrapa - UFSCar



Prof. Dr. Patricio Guillermo Peralta Zamora
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 27 de março de 2013

Dedico este trabalho aos meus pais Sirlei e Mauri, pela educação recebida e amor incondicional. E ao meu filho (a), que já despertou em mim o amor verdadeiro.

Agradecimentos

Ao Prof. Andersson Barison pela oportunidade concedida, orientação no desenvolvimento deste trabalho, a confiança e a serenidade passada nos momentos importantes ao longo destes dois anos de convivência.

Ao Prof. Luiz Alberto Colnago pelos ensinamentos e pelas sugestões, em questões práticas de laboratório. Por aceitar fazer parte da banca de defesa de mestrado.

À Prof^a. Noemi Nagata pelas sugestões e ajuda diretamente nos experimentos deste trabalho e desenvolvimento dos modelos de calibração multivariada.

Ao Prof. Claudiney Soares Cordeiro pela contribuição neste trabalho, por meio da correção do relatório anual e por ter participado do exame de qualificação, por suas excelentes sugestões.

Ao Prof. Patrício Guillermo Peralta-Zamora por ter participado do exame de qualificação e por aceitar fazer parte da banca de defesa de mestrado, por suas excelentes sugestões e conselhos.

À Prof^a. Silvana Nisgoski, Prof^a. Mayara Elita Carneiro, à doutoranda Thaís Alves Pereira Gonçalves, do laboratório de Anatomia da Madeira do Centro de Ciências Florestais e da Madeira (CIFLOMA), pelo acesso ao equipamento de RMN em baixo campo.

Aos colegas do laboratório de RMN Alan Diego da Conceição, André Luis Rüdiger, Angelita Nepel, Caroline Werner P. S. Grandizoli, Flávia Aparecida Fonseca e Kahlil Schwanka Salomé.

A todos os professores, servidores e colegas da Universidade Federal do Paraná que contribuíram positivamente para a realização deste trabalho.

Ao Tecpar-Cerbio, representado pelo Químico Giuliano Fernandes Zagonel, pela concessão das amostras de biodiesel e pela realização das análises de viscosidade e infravermelho médio. Além das sugestões no desenvolvimento deste trabalho.

À Unibraspe - Brasileira de Petróleo S.A., representada pelo funcionário Daniel Alves, pela gentil concessão das amostras de Diesel.

Ao Lacaut, representado pela Química Valcineide Tanobe, pela realização das análises de massa específica. À Valcineide pelo incentivo e sugestões.

À minha família amada, Sirlei, Mauri, Danieli, Rodrigo, Laika e Bob pelo amor, compreensão e paciência em todos os dias.

Ao meu namorado Rodrigo Venzke Palmer pelo incentivo durante estes dois anos e principalmente por proporcionar em minha vida a felicidade plena.

Ao amigo Marlon Lima Vargas e a Rosângela Garcia da Silva pela ajuda nas traduções de textos.

Aos amigos pelos momentos de descontração tão preciosos.

A Deus, pela sua presença constante na minha vida, sem que eu precise pedir, pelo auxílio nas minhas escolhas e por guiar meus passos. Que ele continue guiando e iluminando nossas vidas. Amém.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xv
RESUMO.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Biocombustíveis.....	4
2.2 Biodiesel.....	6
2.3 Diesel de origem fóssil – o petrodiesel.....	9
2.4 Misturas Diesel/biodiesel (Bx).....	11
2.5 Ressonância Magnética Nuclear - RMN.....	14
2.5.1 <i>Ressonância Magnética Nuclear em Baixo Campo</i>	17
2.6 Métodos de análise das curvas de relaxação transversal - T_2	22
2.7 Quimiometria.....	23
3. OBJETIVOS.....	29
4. MATERIAIS E MÉTODO.....	30
4.1 Amostras.....	30
4.2 Equipamentos.....	30
4.3 Programas computacionais.....	31
4.4 Preparo das amostras.....	31
4.4.1 <i>Avaliação da influência da temperatura nas curvas de T_2</i>	32
4.4.2 <i>Análises exploratórias PCA e HCA – discriminação entre grupos de amostras</i>	32
4.4.3 <i>Amostras padrões para calibração univariada e multivariada</i>	32
4.5 Aquisição das medidas de CPMG de RMN de ^1H de baixo campo.....	32
4.6 Desenvolvimento das análises exploratórias por PCA e HCA e modelos de calibração multivariada por PLS.....	33

4.7	Construção de Modelos Univariados de quantificação.....	33
4.8	Desenvolvimento dos modelos de calibração multivariado pela PLS.....	33
4.9	Análise por espectroscopia no infravermelho médio das misturas Bx.....	34
4.10	Análise de amostras Bx comerciais.....	34
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
5.1	Determinação dos parâmetros de análise.	35
5.1.1	<i>Sequência de pulsos CPMG</i>	35
5.1.2	<i>Controle da temperatura nos experimentos</i>	36
5.2	Curvas de decaimento de T_2 e a Transformada Inversa de Laplace (ILT).	39
5.3	Análises exploratórias dos dados de RMN de ^1H de baixo campo.....	43
5.4	Construção de Modelo Univariado para Determinação do Teor de Biodiesel Metílico de Soja em Diesel AS500.	48
5.5	Determinação do teor de biodiesel em Diesel através da calibração multivariada. 60	
5.5.1	<i>PLS da mistura biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, utilizando medidas obtidas pela RMN em baixo campo.</i>	61
5.5.2	<i>Modelos de PLS de misturas Bx de fontes diversas de biodiesel em Diesel.</i>	74
5.6	<i>Teste F e teste t de Student para comparação da equivalência do método de RMN em baixo campo versus o método padrão, por infravermelho médio, para previsão dos teores de Bx.</i>	80
5.7	<i>Análise de Amostras Comerciais (Deseis adquiridos em postos de combustíveis na cidade de Curitiba).</i>	84
6.	CONCLUSÕES.	86
7.	PERSPECTIVAS.....	88
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Produção bibliográfica de 2000 a fevereiro de 2013 com o tema <i>biodiesel fuel</i> , retirado da base de dados da <i>science direct</i>	1
Figura 2. Não conformidades das misturas Bx, adaptado do Boletim Mensal da Qualidade dos Combustíveis Líquidos Automotivos Brasileiros - ANP – agosto de 2012.....	3
Figura 3. Produção brasileira de biodiesel e sua prospecção até 2013 (adaptado ¹).	5
Figura 4. Equação química da reação de transesterificação ou alcoólise de triacilgliceróis.	7
Figura 5. Equação química da reação de esterificação de ácidos graxos.	7
Figura 6. Matérias-primas para produção de biodiesel, no Brasil ²⁷	8
Figura 7. Estrutura química das principais substâncias encontradas no petrodiesel.	10
Figura 8. Equações químicas das reações típicas do processo de hidrotratamento (HDT).	11
Figura 9. Espectros de infravermelho médio de misturas de biodiesel e Diesel.	12
Figura 10. Classificação e aplicação das técnicas de RMN em função dos campos magnéticos, observando o núcleo de hidrogênio (¹ H) ¹⁰	14
Figura 11. Spins nucleares expostos a um campo magnético B ₀ , os spins nucleares assumem duas orientações, a favor do campo B ₀ (estado α) e contra o campo magnético B ₀ (estado β).....	16
Figura 12. Esquema dos principais componentes de um aparelho de RMN em baixo campo.	18
Figura 13. Representação vetorial da aplicação da sequência de pulsos spin-echo.	21
Figura 14. Representação esquemática da sequência de pulsos CPMG.	21
Figura 15. Representação esquemática da modelagem de uma PLS.	25
Figura 16. (A) Espectrômetro de RMN em baixo campo Bruker mq20. (B) Parte interna do espectrômetro de RMN baixo campo evidenciando no centro da figura os ímãs permanente e a sonda do equipamento.	30
Figura 17. Caixa térmica utilizada para ambientar as amostras à 37 ± 2 °C.....	31
Figura 18. Perfil ótimo do decaimento da magnetização induzida por T ₂ , obtido experimentalmente, pela sequência de pulsos CPMG.....	36

Figura 19. PCA de amostras de Diesel e biodiesel metílico de soja, medidas em ensaios sequenciais, para estudo da influência da temperatura nos experimentos.....	37
Figura 20. Espectros de relaxometria obtido através da ILT, aplicada sobre as curvas de T_2 , para estudo da influência da temperatura sobre as medidas de relaxação transversal. (A) mistura B4 de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500 sem controle de temperatura, (B) mistura B4 de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500 com controle de temperatura, (C) biodiesel metílico de soja sem controle de temperatura e (D) biodiesel metílico de soja com controle de temperatura.....	38
Figura 21 Curvas de relaxação transversal (T_2) das amostras puras de Diesel AS50 (AS50), Diesel AS500 (AS500), biodiesel metílico de oliva (BMETOL), biodiesel metílico de soja (BMETSO), óleo vegetal de oliva (OOL) e óleo vegetal de soja (OSO).	40
Figura 22 Espectros de relaxometria (ILT) normalizados das amostras puras de Diesel AS50 (AS50), Diesel AS500 (AS500), biodiesel metílico de oliva (BMETOL), biodiesel metílico de soja (BMETSO), óleo vegetal de oliva (OOL) e óleo vegetal de soja (OSO). .	41
Figura 23. Espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de Diesel AS500 (superior) e Diesel AS50 (inferior).	42
Figura 24. (A) Gráfico de escores na PC 1 (97,86 %) versus PC 2 (1,99 %) discriminando as amostras de biodieseis, óleo vegetais, Deseis AS500 e Deseis AS50	43
Figura 25. Influência dos <i>loadings</i> sobre as variáveis originais, na construção da PCA...	44
Figura 26. Dendograma (sem escala) das curvas de T_2 das amostras puras de Diesel AS50 (AS50), Diesel AS500 (AS500); biodiesel metílico de oliva (BMETOL), biodiesel etílico de soja (BETSO), biodiesel metílico de palma (BMETPAL), biodiesel metílico de girassol (BMETGIR), biodiesel metílico de soja (BMETSO); óleo vegetal de oliva (OOL), óleo de soja (OSO) e óleo de girassol (OGIR).	46
Figura 27. Gráfico de escores de PC 1 (33,18 %) versus PC 2 (17,20 %) dos espectros de relaxometria das amostras puras Diesel AS50 (AS50), Diesel AS500 (AS500); biodiesel metílico de oliva (BMETOL), biodiesel etílico de soja (BETSO), biodiesel metílico de palma (BMETPAL), biodiesel metílico de girassol (BMETGIR), biodiesel metílico de soja (BMETSO); óleo vegetal de oliva (OOL), óleo de soja (OSO) e óleo de girassol (OGIR).	47
Figura 28. HCA dos espectros de relaxometria das amostras puras de Diesel AS50 (AS50), Diesel AS500 (AS500); biodiesel metílico de oliva (BMETOL), biodiesel etílico de soja (BETSO), biodiesel metílico de palma (BMETPAL), biodiesel metílico de girassol (BMETGIR), biodiesel metílico de soja (BMETSO); óleo vegetal de oliva (OOL), óleo de soja (OSO) e óleo de girassol (OGIR).	48

Figura 29. (A) Curva de decaimento de T_2 das misturas de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 (B0, B8, B40 e B100); (B) resíduos do ajuste monoexponencial; (C) resíduos do ajuste biexponencial; (D) resíduos do ajuste triexponencial.....	50
Figura 30. Correlação das concentrações das misturas Bx, de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, com os dados de T_2 (1) (A), A1 (B), T_2 (2) (C) e A2 (D) dos ajustes biexponenciais.	51
Figura 31. Curvas analíticas do modelo 1 – A1 versus teores de Bx - e Curva analítica do Modelo 2 – A2 versus teores e Bx, para os modelos de calibração univariados.	54
Figura 32. Resíduos do Modelo 1 e Resíduos do Modelo 2, para os modelos de calibração univariados.	55
Figura 33. Curvas analíticas de misturas Bx de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 utilizando fontes distintas de biodiesel.....	60
Figura 34. Gráfico do somatório dos PRESS versus VL's da PLS e valores da variância capturada pelas VL's, do modelo desenvolvido com as curvas de T_2	63
Figura 35. Gráfico de <i>leverage</i> versus resíduos estudentizados para a PLS com 3 VL's, construída com as curvas de decaimento de T_2 , sem aplicação de pré-processamento..	64
Figura 36. Gráficos dos resíduos estudentizados da PLS com cinco variáveis latentes versus concentração Bx.	66
Figura 37. (A) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto de amostras de calibração. (B) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto amostras de validação cruzada. (C) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto de amostras de validação externa, para o modelo desenvolvido com cinco VL's e com as curvas de T_2	68
Figura 38. Gráfico do somatório dos erros de previsão (PRESS) versus número de variáveis latentes, para a PLS construída com os espectros de relaxometria, sem aplicação de pré-processamento.....	70
Figura 39. Gráfico de <i>leverage</i> versus resíduos estudentizados para a PLS com 5 VL's, construída com os espectros de relaxometria, sem pré-processamento.	71
Figura 40. (A) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto de calibração. (B) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto de validação cruzada. (C) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto de validação externa, para o modelo desenvolvido com quatro VL's e com os espectros de relaxometria.	74

Figura 41 Espectros de relaxometria (ILT). (A) Amostras puras de Deseis AS500 e AS50 (B) Misturas Bx de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500.	76
Figura 42 Amostras comerciais de misturas Bx adquiridas em postos de combustíveis da cidade de Curitiba.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição de ésteres graxos de triacilgliceróis em alguns óleos vegetais e gorduras ¹⁵	9
Tabela 2. Núcleos ativos para a RMN e abundância natural de certos núcleos atômicos ⁴⁵	15
Tabela 3. Ajustes mono, bi e triexponencial dos tempos de relaxação transversal de amostras Bx, de biodiesel metílico de soja e Diesel mineral AS500.	52
Tabela 4. Tabela de análise de variância do modelo 1, utilizando a amplitude A1.	56
Tabela 5. Tabela de análise de variância do modelo 2, utilizando a amplitude A2.	56
Tabela 6. Dados dos ajustes biexponencial para as amostras do conjunto de calibração das misturas Bx, de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, utilizadas no desenvolvimento do modelo de calibração univariada.	57
Tabela 7. Previsão da capacidade preditiva do modelo univariado, para determinação do teor de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, obtido pela interpolação do modelo 1 (A1) e modelo 2 (A2)..	59
Tabela 8. Composição das misturas Bx, de biodiesel metílico de soja e Diesel AS50, utilizadas para a etapa de calibração e validação dos modelos multivariados desenvolvidos a partir das curvas de T ₂	62
Tabela 9. Otimização dos modelos multivariados para quantificação do teor de biodiesel metílico de soja em óleo Diesel mineral AS500, obtidos com as curvas de T ₂	65
Tabela 10. Resultados da previsão do teor de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 do conjunto de amostras da validação externa, para a PLS construída a partir das curvas de T ₂ , com cinco variáveis latentes.	69
Tabela 11. Otimização dos modelos multivariados para quantificação do teor de biodiesel metílico de soja em óleo Diesel mineral AS500, obtidos com os espectros de relaxometria.	72
Tabela 12. Previsão do teor de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500, do conjunto de amostras da validação externa, da PLS construída a partir dos espectros de relaxometria e quatro variáveis latentes.	73
Tabela 13. PLS desenvolvidos para previsão do teor de Bx com fontes diversas de biodiesel e Diesel.....	77

Tabela 14. Resultados da previsão do teor Bx dos conjuntos de amostras da validação externa, para modelos P1, P2, P3, P4 e P5 construídas a partir das curvas de T_2	78
Tabela 15. Média do Teor de Bx, desvios padrão, diferenças entre médias dos métodos padrão (infravermelho) e método por RMN em baixo campo, para determinação do teste F, utilizando o modelo PLS P1.	81
Tabela 16. Teste t pareado para comparação das médias entre o método padrão e o método proposto P1.	83
Tabela 17. Resultados obtidos para a previsão do teor de Bx de amostras comerciais de misturas Bx, para o método padrão (infravermelho) e modelos PLS P1, P2, P3, P4 e P5.	85

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- ABNT – associação brasileira de normas técnicas
- ANP – agência nacional do petróleo, gás natural e biocombustível
- ANOVA – análise de variância de dados
- ARC – agência internacional de pesquisa sobre o câncer
- ASx – Diesel com x ppm de enxofre
- ATR – reflectância total atenuada
- B_0 – campo magnético estático
- BSx – mistura Diesel/biodiesel com x ppm de enxofre
- Bx – biodiesel adicionado ao petrodiesel em percentagem de concentração x
- CP's – components principais
- CPMG – Carr-Purcell-Meiboom-Gill
- CLS – método clássico de mínimos quadrados
- DE – ecos não registrados (*dummy echoes*)
- h – horas
- HCA – análise hierárquica de agrupamentos (*hierarchical clustering analysis*)
- HDT – processo de hidrotratamento
- H₂S – ácido sulfídrico
- I – spin nuclear
- ILT – transformada inversa de LaPlace
- INT – instituto nacional de tecnologia
- K – graus Kelvin
- MCT – ministério da ciência e tecnologia
- MHz – mega hertz
- MLR – regressão linear múltipla
- ms – mili segundos
- M₀ – magnetização resultante
- N – números de pontos coletados para descrever a curva de T₂

NS – número de varreduras ou *scans*

NIR – infravermelho próximo (*near infrared*)

OMS organização mundial da saúde

PC's – components principais (*principal components*)

PCA – análise de componentes principais (*principal components analysis*)

PCR – regressão de componentes principais (*principal component regression*)

PLS – regressão de mínimos quadrados parciais (*partial least square regression*)

PNPB – programa nacional de uso e produção de biodiesel

PRESS – somatório dos quadrados dos erros de previsão (*predictive residual error sum of squares*)

PRÓ-ÁLCOOL – programa nacional do álcool

PROCONVE – programa de controle de poluição do ar por veículos automotores

PRÓ-ÓLEO – plano de produção de óleos vegetais para fins energéticos

RD – intervalo de reciclo entre pulsos (*recycle delay*)

RF - radiofrequência

RMN – ressonância magnética nuclear

RMN AR – ressonância magnética nuclear de alta resolução

RMN MR – ressonância magnética de média resolução

RMN DT – ressonância magnética em baixa resolução ou no domínio do tempo

RMSECV – erros de validação cruzada (*root mean square error of cross-validation*)

RMSEP – erros de previsão do modelo multivariado (*root mean square error of prediction*)

R^2 – coeficiente de correlação

s – segundos

S – enxofre

SO₂ – dióxido de enxofre

SO₃ – trióxido de enxofre

T – Tesla

T₁ – tempo de relaxação longitudinal ou spin-rede

T_2 – tempo de relaxação transversal ou spin-spin

VL's – variáveis latentes

ZnSe – seleneto de zinco

γ - abundância isotópica

γ - razão giromagnética

ω - frequência de precessão

τ – intervalo de tempo entre pulsos

ΔE – diferença de energia

$^{\circ}\text{C}$ – graus Celsius

% - percentagem

RESUMO

Atualmente, a legislação brasileira exige a adição de 5% de biodiesel no Diesel mineral (B5). O controle de qualidade destas misturas (denominadas Bx) é realizado pelo método padrão, baseado na espectroscopia no infravermelho médio, no entanto, esta técnica analítica possui desvantagens que dificultam sua aplicação em ambientes industriais, tais como alta sensibilidade à umidade e vibrações. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um novo método para determinação de Bx através da RMN em baixo campo, visto que, esses equipamentos são amplamente empregados na indústria justamente por sua robustez e facilidade de operação. Assim, a RMN em baixo campo juntamente com ferramentas de calibração multivariadas, foi empregada para determinar o teor de biodiesel no petrodiesel. Para isso, curvas de relaxação transversal (T_2) foram adquiridas de misturas Bx e submetidas à calibração multivariada. Previamente, análises exploratórias multivariadas tais como PCA e HCA foram aplicadas sobre as curvas de relaxação transversal, bem como dos espectros de relaxometria, para avaliar o comportamento das medidas de RMN em baixo campo e verificar a necessidade de ajustes. Entre eles, foi verificada a extrema influência da temperatura sobre o perfil das curvas de relaxação, sendo necessário um rigoroso controle de temperatura. A análise exploratória revelou ainda que as curvas de relaxação são mais sensíveis às alterações na composição química das misturas Bx do que os espectros de relaxometria. Modelos de calibração univariados foram desenvolvidos a partir dos tempos de relaxação e respectivas amplitudes extraídos das curvas de T_2 por meio de ajustes multiexponenciais. Estes mostraram baixa precisão, principalmente para a determinação de baixos teores de Bx. Desta forma, modelos de calibração multivariada foram desenvolvidos a partir das curvas de T_2 , bem como dos espectros de relaxometria. Os modelos multivariados, a partir das curvas de T_2 , mostraram-se eficientes na determinação da percentagem de Bx, com alta precisão e baixos erros de previsão. O método desenvolvido por RMN em baixo campo e calibração multivariada mostrou-se estatisticamente equivalente ao método padrão. Já para análises de amostras comerciais de Bx, o método desenvolvido apresentou erros relativos altos, indicando a necessidade de se continuar investigando o desenvolvimento da RMN em baixo campo na quantificação do teor de biodiesel no petrodiesel.

Palavras-chave: RMN em baixo campo, biodiesel, controle de qualidade.

ABSTRACT

Nowadays, the Brazilian legislation demands addition of 5% of biodiesel to the mineral Diesel (B5). The quality control of these mixtures (denominated Bx) is realised by the standard method, based on the mid-infrared spectroscopy, however, this analytical technique has disadvantages that difficult its application in industrial environments, such as high sensitivity to moisture and vibration. Therefore, the objective of this work was to develop a new method for determination of Bx by NMR in low-field, since these equipment are widely employed in industry, precisely due to its robustness and ease of operation. Thus, the low-field NMR in conjunction to multivariate calibration tools, was used to determine the content of biodiesel in petrodiesel. For that, transverse relaxation curves (T2) were acquired from Bx mixtures and subjected to multivariate calibration. Previously, exploratory multivariate analyses such as PCA and HCA were applied on the transverse relaxation curves, as well as spectra relaxometry to evaluate the behaviour of the low-field NMR measurements and verifying adjustments required. Among them, the extreme influence of temperature was verified on the profile of the relaxation curves, requiring a rigorous temperature control. The exploratory analysis has revealed the relaxation curves are more sensitive to alterations in the chemical composition of the mixtures Bx than the spectra of relaxometry. Univariate calibration models were developed from the relaxation times and their amplitudes, extracted from the T2 curves through multi-exponential adjustments. These showed low accuracy, especially for the determination of low concentrations of Bx. Therefore, multivariate calibration models were developed from the curves of T2 and spectra of relaxometry. The multivariate models, from the curves of T2, were effective in determining the percentage of Bx, with high accuracy and low prediction errors. The method developed by low-field NMR and multivariate calibration was statistically equivalent to the standard method. For analyses of commercial samples of Bx, the developed method showed high relative errors, indicating the need to continue investigating the development of low-field NMR in the quantification of the amount of biodiesel in petrodiesel.

Keywords: Low-Field NMR; biodiesel; quality control.

1. INTRODUÇÃO.

Em 2005 foi lançado no Brasil o programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel (PNPB), através da Lei Federal 11.097/05, de 13 de janeiro de 2005 ^{1,2}. No artigo segundo dessa lei ficou definida a obrigatoriedade da adição do biodiesel ao óleo Diesel mineral comercializado em todo o território nacional ². Assim, o PNPB inseriu no mercado brasileiro as chamadas misturas Bx (onde x representa a quantidade em percentagem de biodiesel adicionado ao petrodiesel) ^{1,2}. Atualmente (2013), a adição de 5%, em volume, de biodiesel ao Diesel (mistura B5) é obrigatória em todo o país, sendo que o PNPB visa chegar em 2014 com a mistura B10 e em 2020 com a mistura B20, a exemplo do que prevê a Europa para seus países, além de Argentina e Colômbia na América Latina ^{2, 3, 4}.

Diante do aumento da demanda por biodiesel, desde 2005, houve um impactante crescimento de pesquisas científicas na área de desenvolvimento de tecnologias para produção desse biocombustível, bem como na área relativa à supervisão da qualidade do biodiesel produzido e distribuído. A figura 1 ilustra o gradual aumento do número de publicações com o tema biodiesel, do ano 2000 a fevereiro de 2013, sendo visível o expressivo número de publicações após a introdução do PNPB (2005) ⁵.

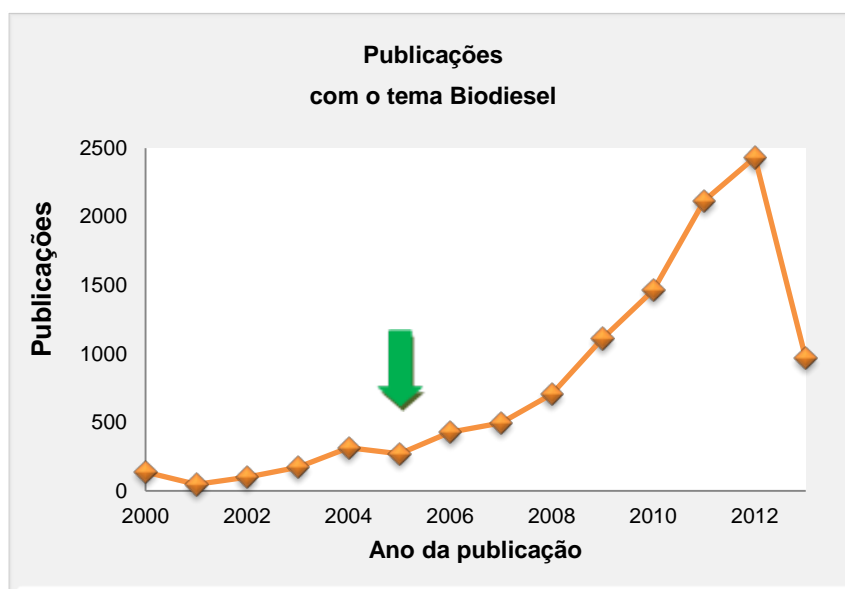


Figura 1. Produção bibliográfica de 2000 a fevereiro de 2013 com o tema *biodiesel fuel*, retirado da base de dados da *science direct*.

Sem dúvida, o grande interesse despertado na comunidade científica proporcionou o amadurecimento na área de produção e controle de qualidade no

mercado do biodiesel. Sendo que, diversos métodos analíticos para o controle de qualidade do biodiesel e das misturas Bx tiveram de ser desenvolvidas e validadas, ao longo desses anos ⁴.

O controle de qualidade do biodiesel e das misturas Bx é determinado e fixado pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (ANP). Por meio da Resolução ANP nº 14, de 11/5/2012, ficou estabelecido os parâmetros a serem analisados e seus respectivos métodos analíticos para a determinação de padrões e procedimentos de controle de qualidade do biodiesel ⁴.

No presente trabalho, focaremos no parâmetro quantificação do teor de Bx, o qual atualmente é determinado por meio do método padrão da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 15568:2008, fixada pela ANP, baseado na espectroscopia vibracional na região do infravermelho médio ^{4, 6}. Obviamente o método padrão é bastante confiável, porém como qualquer outro método analítico possui seus inconvenientes. Dentre as principais desvantagens do método oficial cita-se como pontos negativos: o alto custo de aquisição e manutenção do equipamento; o sistema ótico do equipamento (laser e espelhos) apresenta sensibilidade ao calor e umidade, fator que dificulta sua aplicação em campo. Além disso, o método oficial é bastante laborioso, uma vez que necessita de curvas analíticas com mais de 180 pontos e dependendo da faixa analisada é necessário executar a solubilização da amostra ⁶.

Atualmente, mesmo com a existência do método padrão bem definido o número de não conformidades, em função do não atendimento do teor de Bx, ocupa cerca de 20% do total das não conformidades detectadas no Brasil (Figura 2) ⁷. O não cumprimento do teor de Bx pode ser atribuído a falhas técnicas, durante o preparo da mistura, até fraudes para reduzir o valor da mistura final, já que o biodiesel é vendido a um custo superior ao petrodiesel ^{7, 8}.

Deste modo, este trabalho propõe o uso da espectroscopia de RMN em baixo campo (ressonância magnética nuclear em campos magnéticos de até 2 T, o que corresponde a frequência de Larmor de até 85 MHz para o núcleo de ¹H) como um método alternativo ao existente, bem como para suprir as deficiências do método padrão, e assim viabilizar sua aplicabilidade em ambientes industriais.

Os equipamentos de RMN em baixo campo são pouco difundidos em laboratórios de pesquisa e controle de qualidade, porém podem proporcionar vantagens como: baixo custo do equipamento, ensaio analítico não destrutivo, não exige preparo de amostra, análises são obtidas rapidamente, além da possibilidade de operar *online* ^{9, 10}. Tais

vantagens têm aumentado o interesse nesta técnica analítica instrumental, cuja principal aplicação é a análise quantitativa de um ou mais componentes em amostras de composição complexa ¹⁰.

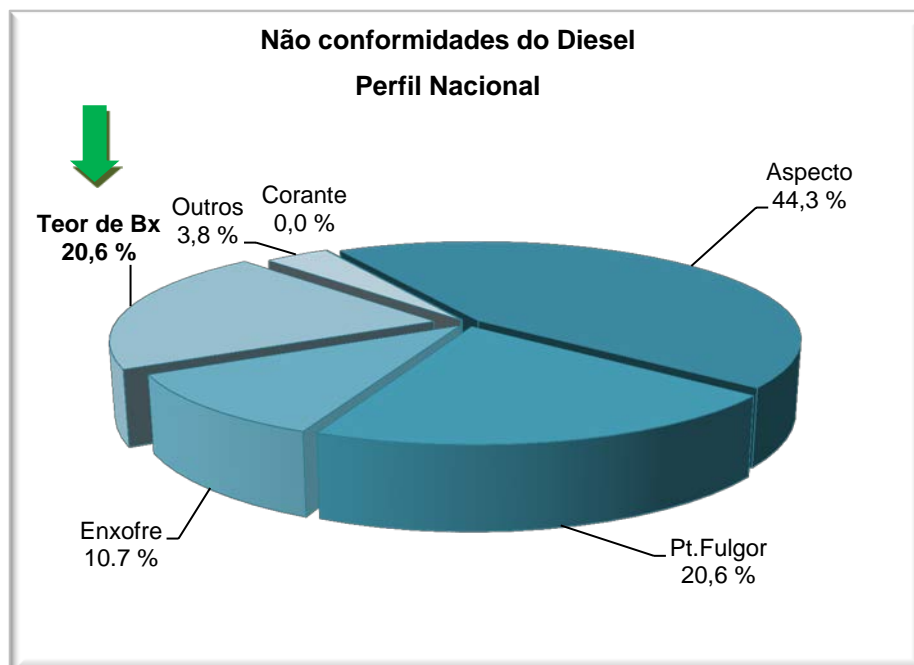


Figura 2. Não conformidades das misturas Bx, adaptado do Boletim Mensal da Qualidade dos Combustíveis Líquidos Automotivos Brasileiros - ANP – agosto de 2012.

Em conjunto com a RMN em baixo campo foi empregada a calibração multivariada. Por meio desta é possível explorar toda a informação fornecida pela técnica analítica de RMN, o que favorece o desenvolvimento de modelos de calibração mais precisos e robustos, mesmo em condições de complexidade de sinal ¹¹.

Diante deste contexto, esse trabalho visa contribuir com o desenvolvimento de um novo método analítico por RMN de ^1H em baixo campo, aliado as ferramentas de calibração multivariada, para a quantificação do teor de Bx. Por meio do uso da análise de componentes principais (PCA) e pelo método de regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS), visa-se desenvolver um método quantitativo rápido e de baixo custo, baseado nas curvas de relaxação transversal (T_2).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.

2.1 Biocombustíveis.

Segundo a Lei Federal nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, “biocombustíveis são combustíveis derivados de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna ou, conforme regulamento, para outro tipo de geração de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil”².

A inserção dos biocombustíveis na matriz energética brasileira ocorreu no início da década de 70, devido aos altos preços dos combustíveis de origem fóssil. Atualmente os principais biocombustíveis produzidos no Brasil são o etanol, obtido da cana-de-açúcar e o biodiesel, obtido de óleos vegetais e gorduras animais¹²⁻¹⁴.

Embora o emprego de biocombustíveis tenha sido incentivado, em grande parte, na década de 70, a viabilidade da utilização dos biocombustíveis no mercado de automotores consta de longa data¹². Por exemplo, em meados de 1920 o Instituto Nacional de Tecnologia (INT) já estudava e testava combustíveis alternativos e renováveis¹². Ainda, pode ser citado o exemplo de Rudolf Diesel, que em 1900 apresentou o precursor do motor do tipo ciclo Diesel que foi projetado para operar com óleo de amendoim^{12, 15, 17}. Deste modo, Rudolf Diesel já no século passado tinha demonstrado ao mundo a possibilidade de utilizar óleos vegetais e gorduras animais nos automotores^{12, 15}. Entretanto, em virtude da disponibilidade econômica e técnica do óleo Diesel, este foi adotado naturalmente como combustível para motores de alta potência, e assim por um grande período os biocombustíveis ficaram em segundo plano^{12, 16}.

Em 1975 o governo brasileiro criou o Programa Nacional do Alcool (PRÓ-ÁLCOOL), programa no qual o etanol foi o biocombustível alternativo à gasolina^{1, 17}. Na época foi o maior programa mundial de energia renovável, devido aos incentivos oferecidos ao programa, por parte do governo brasileiro, em termos de produção, infraestrutura e comercialização^{1, 17}. Foi também o maior programa mundial em meio ambiente por reduzir as emissões atmosféricas, como resultado desses incentivos o crescimento da produção do etanol foi acelerado, tanto que entre 1983 e 1988 cerca de 90% dos automóveis novos, comercializados no país, eram movidos a etanol^{1, 12}.

Seguindo a mesma tendência, de inserção de biocombustíveis na matriz energética brasileira, em 1980 foi implantado o Plano de Produção de Óleos Vegetais para fins energéticos (PRÓ-ÓLEO), com o intuito de produzir óleo vegetal a custos de produção compatíveis com os custos do petróleo^{1, 12, 13, 17}. Com a criação do PRÓ-ÓLEO

a expectativa era alcançar misturas de 30 % de óleos vegetais ou seus derivados com o petrodiesel ^{1, 17}. Em 1980 a transesterificação ou alcoólise de óleos vegetais já era apresentada como uma alternativa tecnológica viável para a produção de biocombustíveis^{1, 13}. No entanto, com a queda e estabilização dos preços do petróleo em 1986 o PRÓ-ÓLEO foi abandonado ^{1, 17}.

O incentivo ao uso do biodiesel como combustível automotivo somente foi retomada em 2005, quando o governo brasileiro, através da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (ANP), lançou o programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel (PNPB) ^{1, 12, 17}. Por meio do PNPB e da Lei Federal 11.097, de 13 de janeiro de 2005, foram definidos prazos e diretrizes para inserção das misturas Bx no mercado de combustíveis ^{1, 2}. A comercialização das misturas Bx ocorreu de maneira gradual, ou seja, em 2005 foi inserido no mercado de combustíveis a mistura B2, em 2010 a mistura B5 e a meta é chegar em 2014 com a mistura B10 e em 2020 com a mistura B20 ^{1, 2}

Com esse novo nicho de mercado, a demanda por biodiesel aumentou significativamente, tanto que a previsão de produção de biodiesel em 2013 chegará a cerca de três bilhões de litros ao ano (Figura 3) ^{1, 16}.

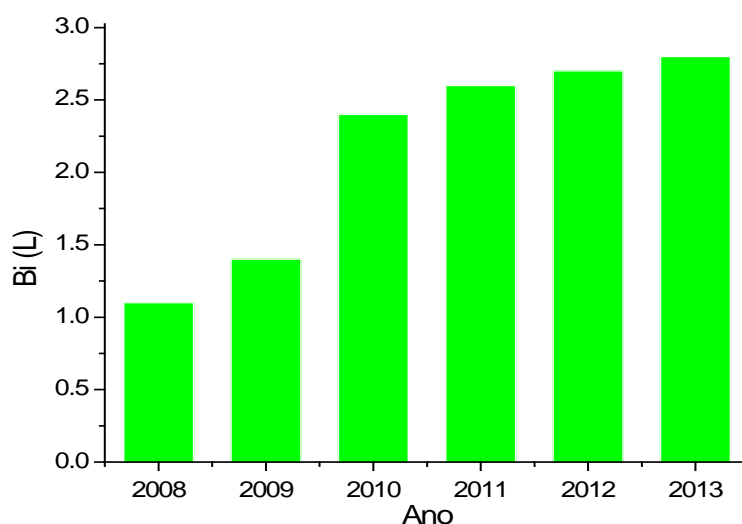


Figura 3. Produção brasileira de biodiesel e sua prospecção até 2013 (adaptado¹).

Segundo o Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT), o Brasil utiliza cerca de trinta e sete bilhões de litros de óleo Diesel por ano, sendo que seis bilhões de litros são importados ^{1, 17}. Desta forma, a adição do biodiesel na composição do Diesel permite a redução na importação do Diesel de origem fóssil ¹⁷.

2.2 Biodiesel.

O biodiesel é definido segundo a Lei Federal nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, como um “biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão, conforme regulamento, ou para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil”². Embora o biodiesel apresente composição química diversa ao do Diesel, suas propriedades físico-químicas, independente da origem do biodiesel, são bastante semelhantes a do petrodiesel^{18, 19}. Assim, devido à semelhança das suas propriedades físico-químicas o biodiesel pode ser utilizado como biocombustível alternativo ao Diesel, sem necessidade de adaptação ou regulação do sistema de injeção dos motores do tipo ciclo Diesel^{18, 19, 20}.

A legislação federal define a matéria-prima de origem do biodiesel, biomassa renovável, no entanto, não faz menção ao processo de obtenção desse biocombustível^{2, 18}. Assim, dessa definição ampla, produtos de processos como craqueamento, hidrocrackeamento, pirólise, transesterificação e esterificação poderiam ser considerados biodieseis, já que esses processos utilizam biomassas renováveis como matérias-primas^{18, 22}. Entretanto, o único tipo de biodiesel regulamentado no território brasileiro é o especificado pela Resolução ANP nº 14, de 11 de maio de 2012^{4, 18}. No artigo segundo dessa resolução o biodiesel é definido como: “combustível de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, produzido a partir da transesterificação e ou/esterificação de matérias graxas, de origem vegetal ou animal”⁴. A mesma resolução ainda especifica que este combustível será denominado biodiesel apenas se atender aos parâmetros físico-químicos indicados no anexo da resolução, sendo necessário ser feita a determinação de tais parâmetros conforme os métodos de análise informados no Regulamento Técnico nº 4/2012, anexo a Resolução ANP nº 14/2012^{4, 18}.

A reação de transesterificação ou alcoólise (Figura 4) para a produção de biodiesel é realizada a partir de óleos vegetais ou gorduras animais, compostos majoritariamente por triacilgliceróis, na presença de catalisadores ácidos, básicos ou enzimáticos. A reação dos triacilgliceróis ocorre com alcoóis de cadeia curta, como o etanol e metanol. A transesterificação transforma os triacilgliceróis (que são derivados de ácidos graxos) em estruturas moleculares mais simples, os alquil ésteres de ácidos graxos, as quais possuem viscosidade menor, além de produzir como coproduto o glicerol. Os produtos obtidos da alcoólise apresentam propriedades físicas bastante similares ao petrodiesel^{23, 24, 25, 26}.

diversidade de ácidos graxos, oleaginosas e gorduras animais que podem ser utilizadas para a obtenção do biodiesel ²¹.

No Brasil apesar da existência de uma grande variedade de oleaginosas, que podem servir de matéria-prima para a produção de ésteres, quase 80 % do biodiesel produzido é derivado do óleo de soja (Figura 6) ^{21, 27}. Na região sul do país o cenário não é diferente do perfil nacional, pois mais de 80 % do biodiesel é o obtido do óleo de soja, seguido em segundo lugar por cerca de 2 % de gorduras animais ²⁷.

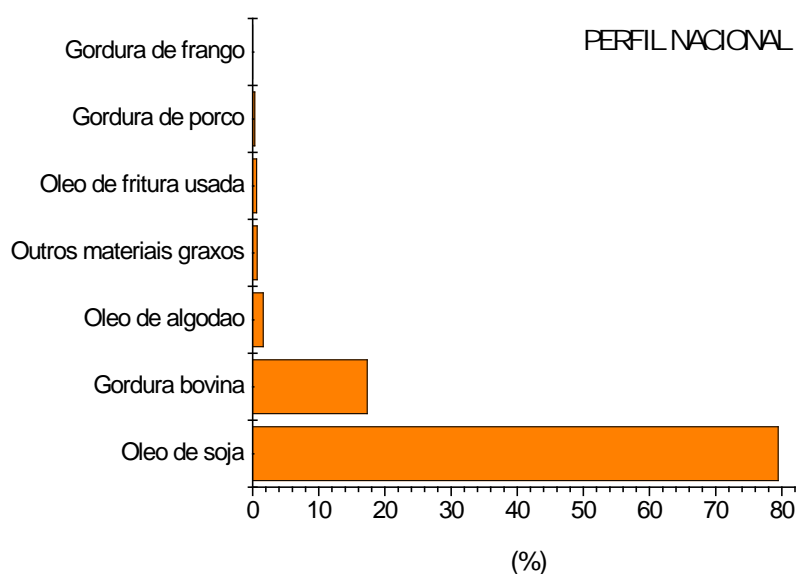


Figura 6. Matérias-primas para produção de biodiesel, no Brasil²⁷.

Além do óleo de soja e gordura bovina também são utilizados, no Brasil, como matéria-prima do biodiesel o óleo de algodão, óleo proveniente de frituras, gordura de frango e gordura de porco (Figura 6) ²⁷. A maioria das matérias-primas, ilustradas na figura 6, utilizadas para obtenção do biodiesel são triacilgliceróis compostos majoritariamente por ésteres de ácidos graxos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) e linolênico (C18:3) (Tabela 1) ^{15, 24}.

A qualidade do biodiesel dependerá das estruturas moleculares de seus ésteres, ou seja, da matéria prima que lhe deu origem, além de outros parâmetros como o teor de água e glicerol presente no combustível, por exemplo. Sendo que as estruturas dos ésteres variam de acordo com o tamanho da cadeia carbônica, as quais possuem de dezesseis a vinte e dois átomos de carbono, com o número e posições de ligações insaturadas, grau de insaturação e com a presença de grupamentos químicos (Tabela 1)

Tabela 1. Composição de ésteres graxos de triacilgliceróis em alguns óleos vegetais e gorduras ¹⁵.

Fonte de trigliceróis	Composição dos ésteres dos ácidos graxos (% em massa)						
	Láurico	Mirístico	Palmítico	Estearico	Oléico	Linoléico	Linolênico
	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	C ₁₈ H ₂₈ O ₂
Algodão	-	1,5	22	5	19	50	-
Amendoim	-	0,5	6,0-11,4	3-6	42,3-61	13-33,5	-
Babaçu	44-45	15-16,5	5,8-8,5	2,5-5,5	12-16	1,4-2,8	-
Coco	44-51	13-18,5	7,5-11	1-3	5-8,2	1,0-2,6	-
Dendê	-	0,6-2,4	32-45	4-6,3	38-53	6-12	-
Girassol	-	-	3,6-6,5	1,3-3	14-43	44-68	-
Linhaça	-	-	6	4	13-37	5-23	26-58
Milho	-	-	7	3	43	39	-
Oliva	-	1,3	7-16	1,4-3,3	64-84	4-15	-
Soja	-	-	2,3-11	2,4-6	23,5-31	49-51,5	2-10,5
Sebo	-	3,6	25-37	14-29	26-50	1-2,5	-

Diante dessa diversidade de ésteres, produzidos por meio das reações de esterificação e transesterificação, a preocupação final da produção é chegar a um produto que esteja de acordo com as normas de controle de qualidade. No Brasil as especificações do biodiesel, a ser misturado com o Diesel mineral, são estabelecidas pela ANP, através da Resolução ANP N° 14, de 11 de maio de 2012 ⁴.

2.3 Diesel de origem fóssil – o petrodiesel.

O Diesel automotivo é um combustível produzido por meio de processos de refino do petróleo, sendo seus constituintes obtidos entre 180 °C e 380 °C²⁸. A maior parte da sua composição é formada por hidrocarbonetos parafínicos, naftênicos, olefínicos e aromáticos, além de pequenas concentrações de compostos contendo heteroátomos como oxigênio, enxofre e nitrogênio (Figura 7) ²⁸. É um produto inflamável, tóxico, volátil, límpido, isento de material em suspensão e com odor forte e característico ²⁹.

No Brasil mais de 75 % do total do Diesel produzido é destinado ao setor de transportes em veículos dotados de motores do ciclo Diesel ³⁰. O Diesel destinado exclusivamente para uso rodoviário é denominado AS ou BS seguido de uma sigla numérica, por exemplo, AS500. A sigla indica a presença (tipo BS) ou não (tipo AS) do biodiesel no Diesel, enquanto que a sigla numérica indica a concentração máxima de enxofre (S) em ppm (partes por milhão) presente no Diesel, conforme definições da ANP ⁴.

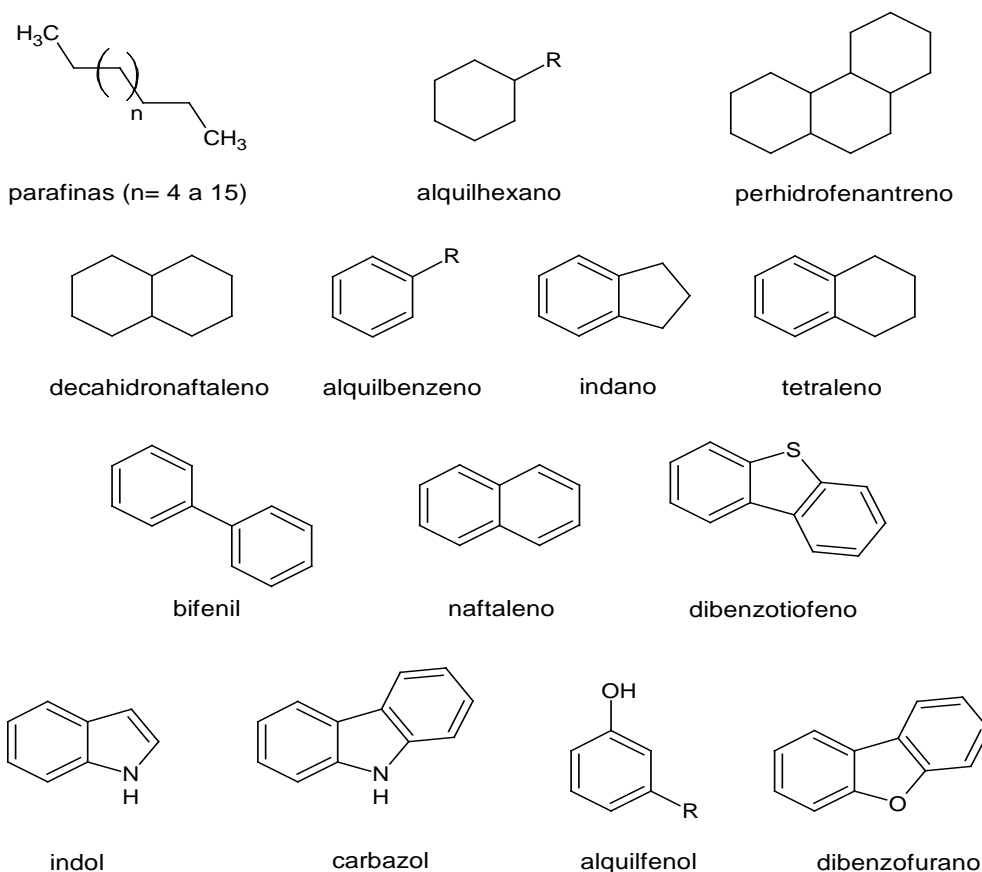


Figura 7. Estrutura química das principais substâncias encontradas no petrodiesel.

O teor de enxofre presente no petrodiesel tem sofrido restrições nos últimos anos, devido a sua interferência na vida útil do motor, nas emissões atmosféricas e na saúde dos seres humanos ³¹. A combustão do óleo Diesel promove a formação de óxidos de enxofre (SO_2 e SO_3), que em contato com água forma o ácido sulfúrico, composto que pode comprometer as peças metálicas do motor e pode contribuir para o fenômeno da chuva ácida ²⁹. Além disso, os óxidos de enxofre emitidos pelos motores do tipo ciclo Diesel, conforme noticiado em junho (2012) pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (ARC) da Organização Mundial da Saúde (OMS), são cancerígenos para

os seres humanos ³². A tendência para os próximos anos é a produção de combustíveis com o mínimo de enxofre na sua composição ²⁹.

Assim, devido à necessidade de reduzir as emissões de gases como SO₂ e SO₃, dos motores do tipo ciclo Diesel. O Programa de Controle da Poluição do Ar por Veículos Automotores (PROCONVE) estabeleceu o uso do Diesel AS50 e AS10 (diesel contendo 50 e 10 ppm de enxofre, respectivamente) para os motores de veículos novos ³³.

Para suprir a nova demanda por Diesel AS50 e AS10 as refinarias brasileiras utilizam o processo de hidrotratamento (HDT) ³³. O HDT remove enxofre através de uma reação de hidrogenação catalítica, por meio do uso de altas pressões e altas temperaturas ^{33, 34}. O processo de dessulfurização converte o enxofre, presente nos hidrocarbonetos, a ácido sulfídrico ^{29, 31, 33} (H₂S) (Figura 8). Além disso, o processo de HDT promove a hidrogenação de compostos aromáticos sulfurosos, bem como a saturação de hidrocarbonetos aromáticos ³¹. Além de enxofre, o HDT também remove oxigênio, halogênios e metais, embora a remoção de enxofre seja mais eficaz ^{28, 31}.

O processo de HDT promove modificações na composição química do Diesel AS50 e AS10 em comparação ao AS500 e AS1800, visto que o Diesel resultante deste processo contém menores teores de compostos aromáticos e compostos com heteroátomos ^{28, 29}. Como resultado das modificações na composição química do Diesel, obtido pelo processo de dessulfurização, obtém-se produtos de combustão do Diesel com menores teores de gases poluentes ³⁴.

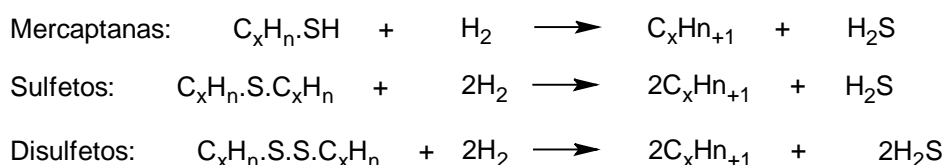


Figura 8. Equações químicas das reações típicas do processo de hidrotratamento (HDT).

2.4 Misturas Diesel/biodiesel (Bx).

Para a determinação do teor de biodiesel no Diesel (parâmetro Bx), conforme revisão da literatura, diversos métodos analíticos têm sido propostos, além do método padrão adotado no Brasil. Atualmente, o método padrão para determinação do teor de Bx segue a norma brasileira NBR 15.568/2008, a qual estabelece as condições para determinação do teor de biodiesel-metílico e/ou etílico, na faixa de 0,5 a 30,0 % (v/v) em Diesel por espectroscopia na região do infravermelho médio⁶. Esse método analítico faz uso do algoritmo matemático de regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS) para

construir uma curva de calibração ^{6, 35}. A curva de calibração é construída em função de duas regiões espectrais características no infravermelho médio, de 1.100 cm^{-1} a 1.200 cm^{-1} e de 1.735 cm^{-1} a 1.750 cm^{-1} (Figura 9), as quais compreendem o estiramento das ligações C-O e C=O de ésteres, respectivamente ^{6, 35}.

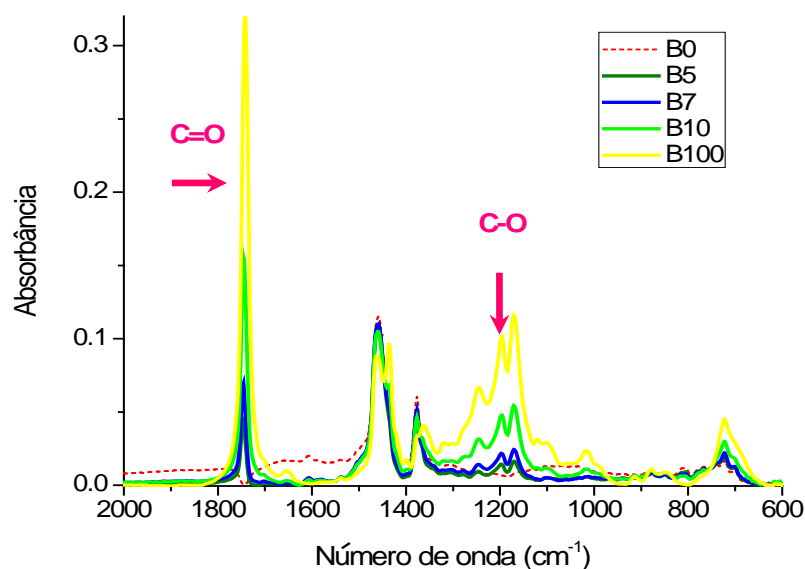


Figura 9. Espectros de infravermelho médio de misturas de biodiesel e Diesel.

Além do método padrão outros foram desenvolvidos para quantificar a mistura Diesel/biodiesel, tais como: análises através da RMN de alto campo, espectroscopia vibracional Raman, espectroscopia vibracional no infravermelho próximo, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, espectroscopia no ultravioleta, espectroscopia de fluorescência e a utilização dos dados de massa específica em conjunto com a calibração univariada para prever percentagens de Bx, entre outros ^{31, 35}.

Knothe em 2001 empregou as técnicas espectroscópicas de infravermelho próximo (NIR) e RMN de ^1H de alto campo para determinar o teor de biodiesel na mistura Diesel/biodiesel utilizando as ferramentas da calibração multivariada ³⁶. Por meio da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), bandas em 6005 cm^{-1} e 4425–4430 cm^{-1} , foi possível distinguir óleos vegetais do biodiesel metílico. Para o desenvolvimento do modelo multivariado, utilizando a PLS, a região de 6005 cm^{-1} apresentou resultados mais satisfatórios do que na região espectral de 4425–4430 cm^{-1} . Para a RMN os sinais em 2,3 ppm e 3,7 ppm foram monitorados e utilizados no desenvolvimento da PLS, em ambos os casos foi verificado erros máximos de 1 a 1,5% ³⁶.

Pierce e Schale propuseram o uso da cromatografia gasosa e da regressão PLS para prever o teor de biodiesel no óleo Diesel. Os modelos desenvolvidos apresentaram desvios máximos de 6% ³⁷. Já Faria *et al.* desenvolveram e validaram um método para o controle de qualidade de misturas Bx de biodiesel oriundo de óleos ricos em ácido linoleico utilizando a cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a espectrometria de massa (CGAR-EM) no modo de análise por monitoramento seletivo de íons ³⁸. O método univariado desenvolvido apresentou erro relativo máximo de 18 % ³⁸.

Zawadzki *et al.* utilizaram a espectroscopia de absorção de ultravioleta (UV) para detectar a mistura Bx com base nos padrões de absorção dos compostos aromáticos no espectro proposto. Para desenvolver um modelo univariado amostras de diferentes fontes de biodiesel e diesel automotivo foram misturadas e diluídas em *n*-heptano. Os ensaios foram adquiridos em três comprimentos de ondas (265, 273, and 280 nm), região do espectro de ultravioleta correspondente a absorção de compostos aromáticos, neste caso presentes no Diesel automotivo. O método proposto foi avaliado como aplicável a qualquer matéria-prima de biodiesel e independente da origem do diesel na mistura, o erro relativo médio estimado do método foi de 2,88 % ⁸.

Scherer *et al.* em 2010 propuseram um método baseado na espectroscopia de fluorescência para determinação de Bx, utilizando misturas de biodiesel de soja e diesel automotivo diluídas em diclorometano ³⁹. Modelos univariados foram construídos utilizando as áreas das bandas dos espectros de fluorescência entre 280 e 800 nm quando excitados a 260 nm, os modelos apresentaram altos coeficientes de correlação ³⁹. Já Caires *et al.* em 2012 complementaram o trabalho de Scherer *et al.*, citado anteriormente, utilizando misturas de Bx com diferentes fontes de biodieseis, sendo eles biodiesel de canola, girassol, milho e soja, e assim demonstraram a independência do modelo de calibração proposto frente a diferentes fontes de biodieseis ⁴⁰.

Moser em 2012 propôs o uso dos dados de massa específica de misturas de biodiesel metílicos obtidos da soja, palma, canola e gordura de frango com Diesel com baixos teores de enxofre, os chamados ULSD (*ultra-low sulfur*), os quais possuem teores de enxofre menores que 15 ppm, em conjunto com a calibração multivariada para predição das percentagens das misturas Bx ³¹. Moser utilizou o método dos mínimos quadrados para desenvolver as curvas analíticas, e assim obteve altas correlações lineares para os modelos propostos. Ao validar os métodos desenvolvidos foi verificado que a predição de Bx foi efetiva quando aplicada as misturas preparadas com os mesmos Dieséis e biodieseis dos modelos modelados³.

Assim, é notável a existência de uma ampla gama de trabalhos com o objetivo de propor métodos alternativos ao método oficial para determinação da percentagem de Bx. Entretanto, nenhum método reuniu vantagens como facilidades de operacionalização, rapidez, precisão e baixo custo. Deste modo, a utilização dos espectrômetros de RMN em baixo campo viabiliza o desenvolvimento de um ensaio que não exige o pré-tratamento de amostra, baixo custo do equipamento e a mobilidade do sistema pode permitir a coleta de informações *in loco* ⁴⁴.

2.5 Ressonância Magnética Nuclear - RMN.

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma das técnicas espectrométricas mais difundida na química orgânica, já que pode ser aplicada a todos os tipos de amostras desde gases, sólidos amorfos e cristalinos, líquidos, soluções, géis, emulsões e até amostras *in vivo* ^{10, 45, 46}. A RMN pode ser dividida em três categorias: RMN de alta resolução (RMN AR), RMN de média resolução (RMN MR) e RMN de baixa resolução RMN BR, ou RMN no domínio do tempo (RMN DT) (Figura 10) ¹⁰.

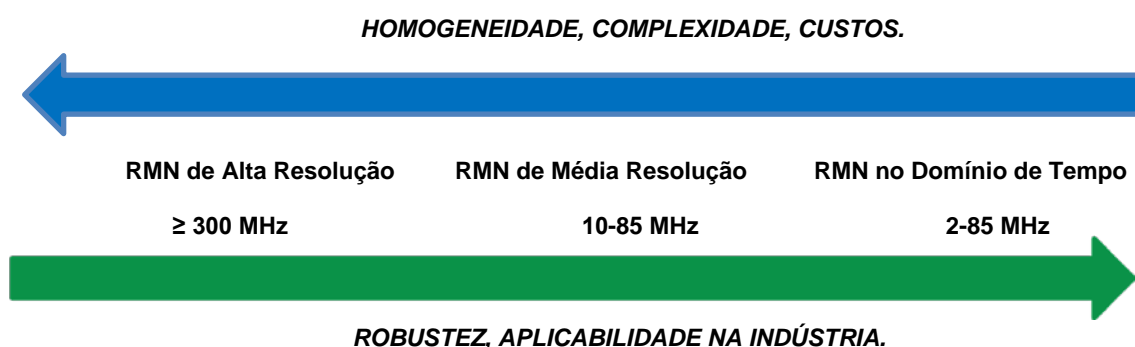


Figura 10. Classificação e aplicação das técnicas de RMN em função dos campos magnéticos, observando o núcleo de hidrogênio (¹H) ¹⁰.

A RMN de alta resolução (RMN AR) é reconhecida como uma das mais poderosas ferramentas de análises estruturais, uma vez que fornece grande quantidade de informações sobre as amostras em investigação ^{10, 46, 47}. Por utilizar campos magnéticos de alta intensidade (acima de 100 MHz) a RMN AR é muito aplicada na identificação de misturas e na elucidação estrutural de moléculas ^{10, 46}.

A RMN de média resolução (RMN MR) opera em campos magnéticos (B_0) de 0,25 a 2,1 T, é classificada entre a RMN AR e RMN no domínio do tempo (RMN DT), sendo sua principal aplicação para o monitoramento de reações e técnicas hífenadas ¹⁰.

Já a RMN DT possui campos magnéticos de baixa intensidade e poucos homogêneos, por utilizar ímãs permanentes que operam entre 0,05 a 2,1 T. A RMN no domínio do tempo, ou de baixa resolução ou ainda de baixo campo, tem como aplicações típicas medidas de relaxometria e difusibilidade ¹⁰. Por ser um equipamento robusto, de custo relativamente baixo e de fácil operação a RMN DT é utilizada com ferramenta analítica padrão no controle de qualidade, bastante aplicada em ambientes industriais ¹⁰.

O fenômeno de RMN pode ser aplicado a núcleos atômicos que possam se comportar como pequenos magnetos ^{45, 48, 49, 50}. Todos os núcleos atômicos possuem cargas, mas somente núcleos com spin nuclear (I) diferente de zero podem ser observados pela ressonância magnética nuclear, ou seja, possuem atividade na RMN. Em geral, os núcleos que têm número ímpar de prótons, como o hidrogênio e seus isótopos, ou número ímpar de nêutrons, como o ¹³C, tem atividade magnética. Enquanto que, quando os números de prótons e de nêutrons são pares, como o ¹²C, o núcleo não tem atividade magnética, ou seja, não se comportam como pequenos magnetos e, portanto, não podem ser observados pela RMN (Tabela 2) ^{45, 46, 47, 49, 50}.

Tabela 2. Núcleos ativos para a RMN e abundância natural de certos núcleos atômicos ⁴⁵.

Núcleo	Atividade na RMN	Abundância Natural (%)	Núcleo	Atividade na RMN	Abundância natural (%)
¹ H	Ativo	99,985	¹⁶ O	Inativo	99,759
² H (deutério)	Ativo	0,015	¹⁷ O	Ativo	0,037
³ H (trício)	Ativo	0	¹⁸ O	Inativo	0,204
¹² C	Inativo	98,89	¹⁹ F	Ativo	100
¹³ C	Ativo	1,11	³¹ P	Ativo	100
¹⁴ N	Ativo	99,63	³⁵ Cl	Ativo	75,53
¹⁵ N	Ativo	0,37	³⁷ Cl	Ativo	24,47

Os núcleos atômicos com spin nuclear diferente de zero possuem movimento de rotação, e assim criam um momento magnético nuclear, assim como qualquer partícula carregada que se move ^{45, 50}.

Quando, por exemplo, o núcleo ¹H é exposto a um campo magnético estático de intensidade B_0 , núcleo ativo na RMN ($I=1/2$), o momento magnético do núcleo de ¹H passa a adquirir um movimento de precessão em torno de B_0 , esse movimento de precessão lembra o movimento de um pião ao girar ao redor do campo gravitacional da terra (Figura 11) ^{45,48}. Sendo que a frequência de precessão dos núcleos expostos a B_0

será determinada pela intensidade do campo magnético aplicado e pela razão giromagnética (γ), constante característica de cada núcleo ativo na RMN (equação 1). A equação 1 representa a equação fundamental da RMN, a qual correlaciona a radiofrequência aplicada (ν) com o campo magnético estático aplicado ao núcleo observado^{45, 46, 48, 49}.

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot B_0 \quad (1)$$

O fenômeno de ressonância magnética nuclear efetivamente é observado quando a radiação de radiofrequência enviada aos núcleos expostos ao B_0 coincide com a frequência de precessão do núcleo sob investigação, frequência chamada de Larmor^{45, 46, 50}. Assim, os núcleos sob investigação, por exemplo, o núcleo de ^1H , podem assumir duas orientações, a favor do campo B_0 , uma opção energeticamente favorável, ou, ao contrário, contra o campo B_0 , uma orientação de energia mais alta (Figura 11). Essas duas orientações são chamadas de estados de spin α e β , respectivamente^{45, 46, 49}.

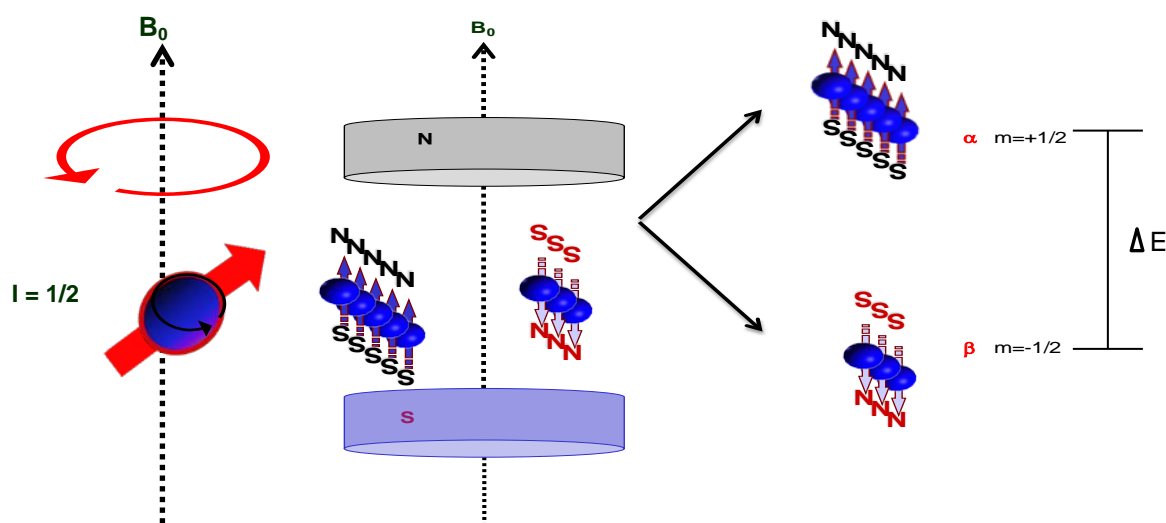


Figura 11. Spins nucleares expostos a um campo magnético B_0 , os spins nucleares assumem duas orientações, a favor do campo B_0 (estado α) e contra o campo magnético B_0 (estado β).

Sabendo que existe uma maior população de spins no estado α , verifica-se que existirá um vetor resultante dos momentos magnéticos a favor do campo B_0 , a qual é denominada magnetização resultante M_0 . As interações entre a magnetização resultante, com a radiofrequência aplicada, darão origem às técnicas de medição das frequências de precessão nos espectrômetros de RMN^{48, 49, 50}.

$$\frac{N_{\alpha}}{N_{\beta}} = e^{\left(\frac{\Delta E}{kT}\right)} \quad (2)$$

Onde: N_{α} é a população de spins no estado α , N_{β} os spins no estado β , k representa a constante de Boltzmann ($1,3806 \times 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$), T é a temperatura em Kelvin (K) e ΔE é a diferença de energia entre os estados de spins.

2.5.1 Ressonância Magnética Nuclear em Baixo Campo.

Os equipamentos de RMN em baixo campo, ou baixa resolução (ressonância magnética nuclear em campos magnéticos de até 2 Tesla (T), o que corresponde a frequência de Larmor de até 85 MHz para o núcleo de ^1H) são uma categoria de aparelhos de RMN, que podem ser utilizados para contornar os inconvenientes dos espectrômetros de RMN de alta resolução, tais como custos do equipamento e complexidade de operacionalização ¹⁰.

A RMN em baixo campo hoje é uma área de rápido crescimento, com uma grande variedade de novas tecnologias em desenvolvimento para tornar esta ferramenta útil⁴. Os equipamentos são extremamente robustos tanto que são enviados para dentro de poços de petróleo com o objetivo de medir o teor de hidrocarbonetos, ao mesmo tempo em que a broca perfura o poço ^{10, 51}.

O custo do equipamento é relativamente barato, pois é construído basicamente a partir de uma fonte de geração de radiofrequência (RF), ímãs permanentes, detector de RF e um processador de dados (Figura 12). Como são baseados em ímãs permanentes de 0,05 a 0,5 T, normalmente fabricados a partir de AlNiCo, uma liga com uma variação de temperatura comparativamente fraca, não apresentam campos magnéticos altos e homogêneos. Assim, a utilização de ímãs permanentes reduzem significativamente os altos custos de produção dos eletroímãs supercondutores, bem como da manutenção destes por não haver a necessidade de refrigeração com hélio e nitrogênio líquidos ⁴⁵.

Há diversas maneiras para adquirir os dados de RMN em baixo campo. Porém a base dos experimentos parte do seguinte princípio: após a emissão de um pulso de radiofrequência, o qual perturba o estado de equilíbrio dos spins nucleares e induz uma magnetização líquida transversal a B_0 , ocorre o processo de decaimento livre da magnetização induzida dos núcleos sob investigação, e o sinal gerado é proporcional ao número total de hidrogênios da amostra analisada ^{46, 49}. O núcleo mais comumente investigado na RMN em baixo campo é o ^1H seguido do ^{19}F , devido a sua alta abundância isotópica (γ) ¹⁰.

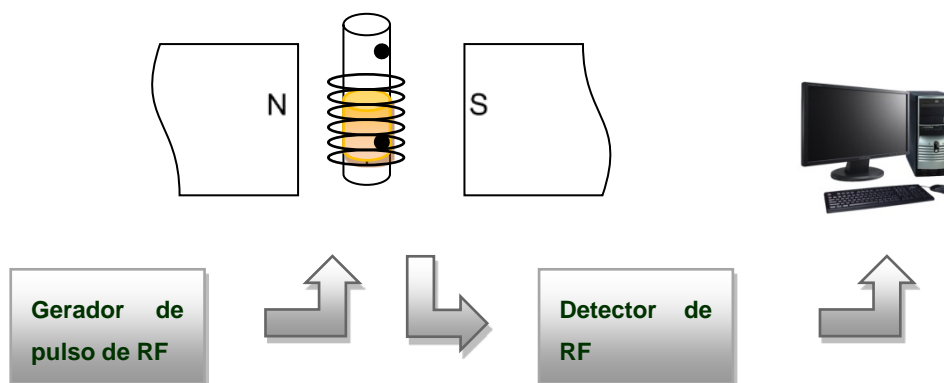


Figura 12. Esquema dos principais componentes de um aparelho de RMN em baixo campo.

Os experimentos são baseados em medidas dos diferentes tempos de relaxação longitudinal ou spin rede (T_1) e transversal ou spin-spin (T_2) dos núcleos de hidrogênio, os quais estão relacionados com a mobilidade molecular e com as propriedades físicas e químicas das amostras investigadas ^{46, 44, 50, 52, 53}. Os mecanismos de relaxação correspondem à recuperação da magnetização M_0 ao longo do eixo z (eixo que corresponde ao campo magnético externo aplicado a amostra B_0), sendo que as relaxações transversal e longitudinal ocorrem simultaneamente ⁵⁴.

A relaxação longitudinal de um núcleo atômico, ou T_1 , é caracterizada por um decaimento exponencial. Esse decaimento descreve o retorno da magnetização ao eixo z e a recuperação das populações de equilíbrio, depois de ser aplicado um pulso de radiofrequência (RF), e ocorre devido aos campos magnéticos locais flutuantes produzidos pela sua vizinhança, denominado rede ^{49, 54}. Após a excitação dos spins, por exemplo, com um pulso de RF de 180° , inicia-se o processo de relaxação longitudinal, que irá reestabelecer o equilíbrio da população de spins entre os níveis de energia inicial, ou seja, o vetor magnetização irá retornar a posição inicial M_0 . A relaxação longitudinal ocorre de forma exponencial e pode ser representada pela equação 3 ^{48, 49, 55}.

$$M_z(t) = M_0(1 - e^{-t/T_1}) \quad (3)$$

Onde: M_z indica o vetor magnetização em determinado tempo (t) e T_1 é o valor do tempo de relaxação longitudinal. O valor do tempo de relaxação longitudinal é calculado quando 63% da magnetização atingiu seu valor de equilíbrio inicial.

A relaxação longitudinal, em RMN em baixo campo, é normalmente aplicada a amostras sólidas, heterogêneas ou líquidos de alta viscosidade, pois no caso de líquidos de baixa viscosidade, os tempos de T_1 são tão longos que antes da magnetização se espalhar no plano transversal, ela já retornou à direção do eixo z. Assim, verificam-se

para líquidos de baixa viscosidade tempos de relaxação longitudinal praticamente idênticos aos tempos de relaxação transversal ⁵⁵.

A relaxação transversal, ou relaxação spin-spin, refere-se à perda de coerência de fase dos vetores de magnetização no plano cartesiano x-y (perpendicular a B_0), após o envio de um pulso de radiofrequência de 90° em M_0 que produz um torque da magnetização M_0 do eixo z para o plano x-y ^{46, 49, 55}.

Para amostras contendo átomos ativos na RMN e expostas a um campo magnético B_0 a frequência de precessão (ω) será dada segundo a equação 4.

$$\omega = \gamma B_0 \quad (4)$$

Caso todos os núcleos estivessem sofrendo a influência de um mesmo campo magnético, ou seja, um campo magnético totalmente homogêneo, o sinal da RMN depois de um pulso de radiofrequência de 90° decairia exponencialmente com uma constante de tempo T_2 de acordo com a equação 5 ⁵⁰.

$$M_z(t) = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (5)$$

Onde: M_z indica o vetor magnetização em determinado tempo (t) e T_2 é o valor do tempo de relaxação transversal.

No entanto, na prática não é possível obter um condição perfeita de campo magnético, ou seja, a amostra investigada sempre irá sofrer diferentes contribuições do campo magnético ao longo do eixo z de B_0 . Assim, a amostra estará sofrendo a influência de diferentes campos magnéticos o que por sua vez geram diferentes frequências de ressonância ⁵⁰.

Após ser aplicado um pulso de radiofrequência de 90° todos os núcleos estarão em fase. No entanto depois de um determinado tempo t , diferentes fases serão observadas em função das diferentes velocidades de precessão dos núcleos investigados. Essas diferenças de velocidade de precessão irão reduzir o vetor M_0 e portanto o sinal observado, uma vez que este depende da soma vetorial dos momentos magnéticos individuais. Assim, se assumirmos uma distribuição retangular do campo magnético ao longo do eixo z, ou seja, se assumirmos que existe um gradiente de campo linear em toda a amostra, o sinal poderá ser descrito em função da equação 6 ^{49, 50}.

$$M_t = M_0 \frac{\sin(\gamma \Delta B t)}{\gamma \Delta B t} \quad (6)$$

Onde γ é a constante giromagnética do núcleo sob investigação e ΔB é a maior variação do campo magnético em torno de uma média.

A perda de coerência de fase dos vetores magnetização devido a falta de homogeneidade de campo magnético é um processo reversível. Assim, por meio de um pulso de radiofrequência de 180° , aplicados após um determinado tempo τ , é possível inverter o sentido de rotação, e assim fazer com que os vetores individuais se reencontrem após um período de 2τ . Em seguida o sistema entra em defasagem novamente, o qual pode ser novamente refocado por novo pulso de 180° . Este processo é conhecido como sequência spin-echo (Figura 13) ⁵⁰.

A sequência de pulsos denominada CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill), leva em sua sigla a inicial de seus criadores, foi desenvolvida para eliminar a interferência da não homogeneidade do campo magnético sobre a amostra. A CPMG, figura 14, consiste na aplicação de um pulso de 90° no eixo x, seguido por um tempo τ . Após esse tempo, é aplicado um pulso de 180° no eixo y, responsável pela inversão de fase dos vetores magnetização em torno do seu próprio eixo (Figura 13). Assim, após um determinado tempo 2τ obtém-se um sinal denominado eco de spin. O eco é resultado do reencontro dos vetores magnetização individuais. O pulso de 180° é repetido a cada 2τ até o desaparecimento do sinal ⁵⁶.

A relaxação transversal é normalmente aplicada a amostras líquidas, pois os spins apresentam mobilidade suficiente para terem seus campos magnéticos projetados a zero durante o experimento de RMN, fazendo com que T_2 seja bastante longo. Já os líquidos viscosos apresentam T_2 menor e os sólidos apresentam T_2 bastante curtos ⁵⁵.

Desta forma, por meio dos experimentos de RMN em baixo campo é possível investigar a mobilidade molecular de sistemas complexos, como são os óleos vegetais, petróleo e biodieséis ^{9, 57, 58}. Além disso, é possível investigar a contribuição de populações com mobilidades moleculares distintas na amostra ⁵⁹.

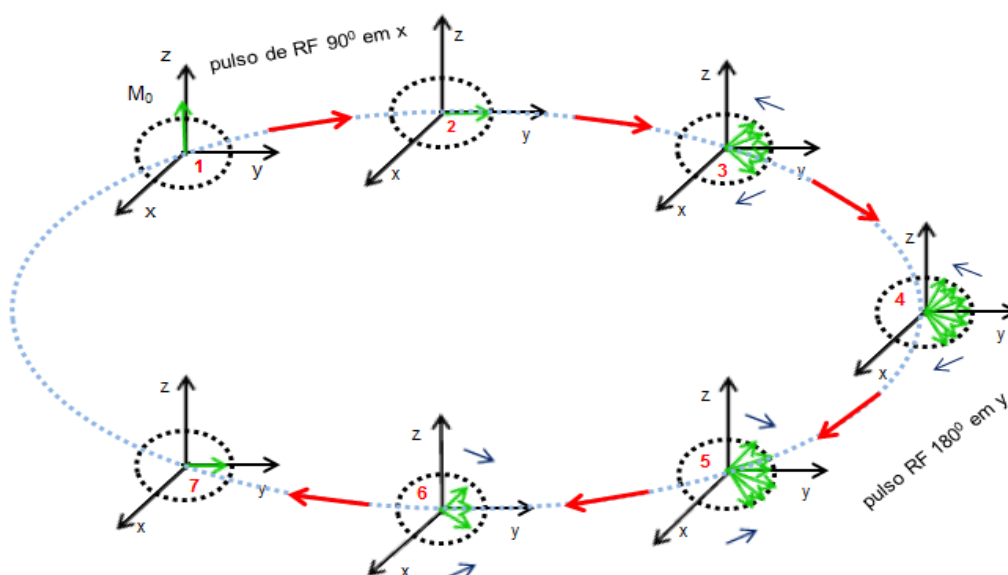


Figura 13. Representação vetorial da aplicação da sequência de pulsos spin-echo.

Dentre as principais aplicações da análise de RMN em baixo campo destacam-se as análises quantitativas, que são baseadas na correlação linear entre a intensidade do sinal de decaimento e a concentração do composto analisado, além da aplicação das ferramentas de calibração multivariada ^{10, 60}.

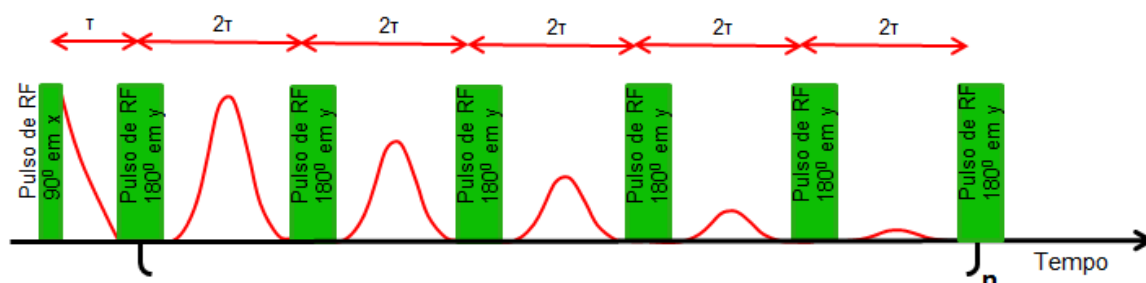


Figura 14. Representação esquemática da sequência de pulsos CPMG.

Técnicas de RMN de ^1H de baixo campo foram empregadas na determinação da quantidade total de hidrogênios em amostras de combustíveis, determinação do teor de umidade em diversos produtos, teor de óleo e umidade em sementes oleaginosas. Já a RMN de ^{19}F foi empregada em determinações de fluoreto em pastas de dentes, flúor total em polímeros e flúor presente em herbicidas fluorados ⁶⁰.

Medeiros *et al.* empregaram a RMN em baixo campo para determinar o teor de óleo em sementes de mamona, produzidas por mamoneiras submetidas à irrigação de águas residuárias, de abastecimento e misturas de águas residuárias com águas de abastecimento. Segundo o autor a técnica foi eficiente para segregar as sementes

oriundas dos diferentes tipos de irrigação e para determinar o teor de óleo nas sementes analisadas ⁵⁸.

A RMN de ¹H de baixo campo foi empregada por Honorato *et al.* para investigar as propriedades químicas e físicas de amostras de petróleo, submetidas ao tratamento de plasma, por meio do estudo da relaxação transversal. A técnica foi considerada útil para investigar o efeito do tratamento de plasma aplicado aos óleos crus de petróleo ⁶¹.

Quando se deseja quantificar um determinado composto, numa amostra constituída de vários componentes, é necessário que existam diferenças entre os tempos de relaxação do analito e os outros componentes da amostra. Entretanto, conforme os tempos de relaxação dos compostos de uma mesma amostra tornam-se similares, como é o caso do biodiesel e do Diesel mineral, que apresentam mobilidades moleculares bastante semelhantes, aumenta a dificuldade da técnica em distinguir e quantificar seus componentes individualmente ⁵⁰.

Buscando minimizar o problema são empregados métodos computacionais para fazer uma análise global dos dados, tais como a calibração multivariada e análise multiexponencial por meio da Transformada inversa de Laplace (ILT) ⁶².

2.6 Métodos de análise das curvas de relaxação transversal - T₂.

A partir das curvas de decaimento transversal, quando submetidas a ajustes exponenciais, é possível extrair os valores de relaxação transversal e amplitudes dos sinais, por meio das equações 7 e 8, originando os espectros de relaxometria

$$y(t) = A_0 e^{-\left(\frac{t}{T_2}\right)} + o \quad (7)$$

$$y(t) = \sum_{k=1}^n A(T_2k) e^{-t/T_2k} + o \quad (8)$$

Onde t refere-se ao tempo do experimento, A₀ é a amplitude no tempo igual a zero, T₂ é a relaxação transversal, K é o número de componentes na amostra e “o” é o *offset* (deslocamento das curvas de T₂).

Os valores de tempo de relaxação transversal, amplitude de sinais e áreas dos sinais, nos espectros de relaxometria, podem ser utilizados em análises quantitativas, que são baseadas na correlação linear entre a intensidade de sinal ou no tempo de relaxação de T₂ com a concentração do analito analisado ^{50, 60, 63}.

Valores de tempos de relaxação e valores de amplitudes das curvas de T_2 podem ter soluções únicas ou múltiplas, já que os sinais de T_2 assumem funções exponenciais superpostas. Soluções únicas evidenciam que a análise de RMN em baixo campo é viável para detectar um componente na amostra analisada (equação 7), ou seja, um ajuste monoexponencial será a solução. Já para amostras que apresentam números maiores de componentes, ajustes multiexponenciais são requeridas (equação 8) ⁵⁰.

Para análises multivariadas é comum aplicar a curva de T_2 ou utilizar a transformada inversa de Laplace (ILT) para obtenção dos espectros de relaxometria. Para resolver a ILT utiliza-se o algoritmo Contin que é capaz de fornecer a partir da curva de T_2 de uma dada amostra a distribuição dos tempos de relaxação, baseando-se no fato de que cada ponto da curva de relaxação resulta do somatório de diversas exponenciais ⁶².

O princípio da transformada inversa de Laplace é dado assumindo que o sinal gerado pelo RMN em baixo campo é linear a superposição de funções exponenciais de relaxação (Equação 8). Integrando a equação 2 tem-se que o $y(t)$ é a transformada de Laplace de uma função de distribuição de amplitude (A) dos tempos de relaxação. Portanto, uma transformada inversa de Laplace da função do sinal de decaimento de um experimento de relaxamento irá revelar a distribuição de frequência dos tempos de relaxação ⁶².

A análise contínua de dados de relaxação não assume nenhuma restrição prévia sobre o número de componentes exponenciais nos dados e sim uma distribuição contínua dos tempos de relaxação. A abordagem não assume, a priori, o número de componentes ou a natureza deste, ao invés, permite que as medidas experimentais determinem a natureza dos componentes do tempo de relaxação ⁶².

2.7 Quimiometria.

Os métodos de calibração multivariados foram muito empregados em conjunto com os métodos analíticos propostos para a determinação de Bx, inclusive é utilizado pela método padrão especificado na NBR 15.568/2008, pois apesar de o objetivo ser quantificar um único parâmetro a mistura formada por biodiesel e Diesel é de alta complexidade.

O termo quimiometria representa todos os métodos de calibração multivariados utilizados na química analítica, desenvolvidos por meio de métodos matemáticos e estatísticos a partir de respostas analítica ⁶⁴. A grande vantagem da quimiometria, frente

aos métodos clássicos de calibração de ordem zero ou univariada, está no fato dessa facultar o uso de todos os dados e/ou informações espectrais gerados pelas técnicas analíticas ⁶⁵. O resultado do uso de grandes quantidades de dados químicos, ao mesmo tempo, é a de propiciar a análise de vários parâmetros simultaneamente, minimizar os efeitos de interferentes e falta de seletividade do método ^{63, 65}. Por meio da quimiometria é possível detectar diferenças entre amostras, a partir de diferenças espectrais sutis não observáveis visualmente, gerando modelos quantitativos ou qualitativos mais eficazes, em tempo relativamente curto ^{64, 66}.

A modelagem de curvas de calibração para quantificação de analitos sejam elas realizadas por métodos univariados ou multivariados, é a procura de um algoritmo matemático capaz de quantificar um ou mais analitos frente a respostas geradas por métodos espectrométricos, cromatográficos entre diversos outros. Alguns métodos são de uso comum para aplicação nos métodos de calibração multivariada: a regressão linear múltipla (MLR), método clássico de mínimos quadrados (CLS), regressão por componentes principais (PCR sigla em inglês para *principal component regression*) e a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS sigla em inglês para *partial least squares*) ⁶⁶.

Para análises qualitativas, são normalmente utilizadas a análise de componentes principais (PCA) e análise hierárquica de classes (HCA), as quais são análises exploratórias de dados, cujo objetivo é fornecer uma análise preliminar dos dados e deste modo agrupar padrões por meio das similaridades ou diferenças entre amostras ⁶⁶.

Neste trabalho a PCA e HCA foram utilizadas para verificar o comportamento das amostras frente às medidas de T_2 , já a PLS foi escolhida, para desenvolver modelos de quantificação, por ser um dos algoritmos de calibração multivariado melhor estabelecido e um dos mais comumente utilizado, já que é capaz de minimizar as deficiências dos métodos citados anteriormente ⁶⁶.

A HCA consiste no tratamento matemático de cada amostra como um ponto no espaço multidimensional descrito pelas variáveis escolhidas. Cada amostra é localizada em um ponto no espaço de um plano bidimensional determinado pelas variáveis informadas, os grupos são formados por meio de similaridade da sua localização vetorial, ou seja, quanto mais próximas estiverem às amostras mais similares serão ⁶⁷.

Os métodos mais comuns de cálculo das distâncias vetoriais são: distância euclidiana e distância de Mahalanobis. A distância de Mahalanobis é métrica e se distingue da distância Euclidiana por levar em consideração a correlação entre o conjunto

de dados ⁶⁸. Neste trabalho foi utilizada a distância de Mahalanobis, cuja distância entre dois vetores (amostras) é calculada pela equação 9.

$$d(\vec{x}, \vec{y}) = \sqrt{(\vec{x} - \vec{y})^T \Sigma^{-1} (\vec{x} - \vec{y})} \quad (9)$$

Para construir a PCA, a partir dos dados obtidos pelo RMN de ¹H de baixo campo, uma matriz de dados do tipo amostras versus, por exemplo, dados dos tempos de T₂ é montada e aplicada a PCA, desta forma é possível representar as variações presentes em muitas variáveis, através da compressão dos dados originais, as chamadas componentes principais (CP's). Por meio das novas componentes principais é possível visualizar os dados originais em poucas dimensões ⁶⁶.

Para modelar a PLS utilizando os dados gerados pelo RMN de H¹ de baixo campo as curvas de relaxação transversal (T₂) são agrupada em uma matriz X e os dados de concentração na matriz Y. A matriz X, dita independente, é representada por i versus j, na qual i (linhas) é igual a tantas linhas quanto forem as amostras utilizadas para a construção do modelo de calibração, e j (colunas) representa o número de variáveis fornecidas por T₂. A matriz Y, dita dependente, descreve os valores conhecidos de concentração dos analitos de interesse, para o conjunto de calibração (Figura 15) ⁶⁹.

Após submeter as matrizes X e Y à regressão por mínimos quadrados parciais o conjunto de dados originais (matriz X e Y) é reorganizado por meio de novos autovetores, as chamadas variáveis latentes (VL's). O objetivo de gerar as VL's é a possibilidade de comprimir as informações relevantes em novos fatores, os quais poderão gerar os modelos de calibração ⁶⁴.

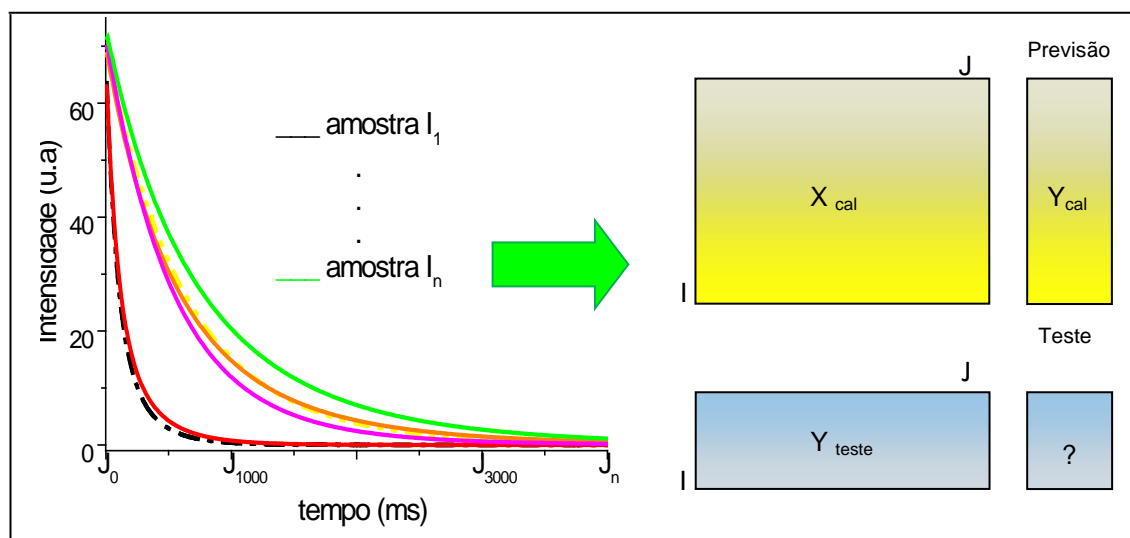


Figura 15. Representação esquemática da modelagem de uma PLS.

As novas variáveis latentes são compostas por dois vetores denominados *loadings* e *scores*. A decomposição das matrizes originais pode ser realizada por diferentes tipos de algoritmos, entre eles cita-se, por exemplo, o algoritmo NIPALS (*nonlinear interactive partial least squares*), que decompõe iterativamente a matriz de dados em uma soma do produto de *scores* e *loadings* para uma faixa de variáveis latentes pré-determinadas ⁶⁵. Assim as matrizes X e Y serão reorganizadas conforme equação 10. Os *scores* representam a localização das amostras no novo conjunto de dados, enquanto que os *loadings* representam o peso com que cada variável original impactou na formação das variáveis latentes ⁶⁴.

$$X = t^1 p^{1T} + t^2 p^{2T} + t^3 p^{3T} + \dots + t_n p^{nT} + F \quad (10)$$

Onde t representa os *scores*, p os *loadings*, T corresponde à transposição dos respectivos vetores, n representa o número de variáveis latentes determinados e F representa as matrizes de resíduos, que não puderam ser explicados pelo modelo.

As variáveis latentes são classificadas em função da sua importância na criação da PLS, ou seja, são geradas em ordem decrescente. Isto implica em atribuir os maiores pesos na PLS em função das primeiras VL's geradas. Assim, a escolha de um número grande dessas pode resultar em um superajustamento do modelo, ou seja, existe a possibilidade de ser incluídas características do sistema de dados que correspondam, por exemplo, a ruídos espectrais. Já a escolha de um pequeno número de variáveis latentes pode levar a uma insuficiente exploração dos dados analíticos ⁶⁴.

Para avaliar o número de variáveis, necessários para modelar a PLS, e para avaliar a presença de amostras anômalas é utilizado o sistema de validação cruzada (*cross validation*), neste trabalho foi utilizado o sistema *leave one out*. Nesse sistema uma amostra é retirada do conjunto de calibração e utilizada como elemento de previsão. Sendo este procedimento repetido para todas as amostras utilizadas na calibração do modelo, uma de cada vez. Por meio desse sistema gera-se dois valores que são decisivos para a escolha do número de variáveis latentes, para o modelo de calibração desenvolvido, os erros de previsão (RMSECV – *root mean-square error of cross-validation*), equação 11 e os coeficientes de correlação (R^2) dos dados correlacionados ⁶⁵.

70.

Após a escolha do número de variáveis latentes e avaliação da presença de amostras anômalas, segue-se para a fase de validação externa. Nessa etapa amostras, não utilizadas na fase de calibração do modelo, são medidas e submetidas ao modelo

multivariado PLS modelado. Para avaliar o desempenho do modelo desenvolvido calcula-se o erro de predição (RMSEP), equação 11. A validação externa é distinguida da validação interna pelo fato das amostras, utilizadas na validação externa, não serem incluídas no conjunto de amostras utilizadas na fase de calibração do modelo ⁶⁴.

$$RMSECV \text{ e } RMSEP = \sqrt{\frac{1}{M} \sum_{i=1}^M (Y_i^{med} - Y_i^{pe})^2} \quad (11)$$

Onde: M representa o número de amostras utilizadas para a fase de validação interna ou na validação externa, Y_i^{med} o valor real da amostra analisada e Y_i^{pe} o valor previsto pelo modelo desenvolvido.

Os Métodos quimiométricos têm-se mostrado bastante útil, na RMN de alta e baixa resolução, sendo crescente a aplicação de métodos de classificação como a PCA e HCA, enquanto que para métodos de quantificação a PLS é extensivamente aplicada ⁶⁷.

Harmer *et al.* utilizaram a RMN em baixo campo, em conjunto com a PLS, para caracterizar amostras de carvão betuminoso oriundo da Austrália. Medidas de relaxação longitudinal, transversal e suas respectivas amplitudes de sinais foram correlacionadas, diretamente e indiretamente, com propriedades do carvão. Segundo o autor, o método foi eficiente para correlacionar, diretamente, parâmetros como umidade e número total de hidrogênio, por meio da amplitude de sinal versus os parâmetros citados. Já para determinar o parâmetro teor de matéria orgânica volátil foi necessário empregar a calibração multivariada, a PLS. Os resultados obtidos para determinação de umidade e matéria orgânica volátil, por RMN em baixo campo, foram confrontados com os resultados obtidos via método padrão, e apresentaram desempenho, em termos de repetibilidade e reprodutibilidade, iguais ou levemente superiores ao método padrão ⁷¹.

A PLS foi empregada por Pedersen *et al.* em dados de curvas de relaxação, obtidas por medidas de RMN em baixo campo, de amostras de sementes de mostarda e canola. O objetivo foi quantificar teor de água, óleo e proteínas nestas amostras. Para a obtenção das medidas de relaxação foram utilizadas as amostras úmidas, e em um segundo momento amostras foram secas. Os modelos de PLS utilizando dados das amostras secas, antes da obtenção das curvas de relaxação, apresentaram menores valores de erros de previsão (RMSECV na faixa de 0,8 – 1,3), para os parâmetros teor de água, óleos e proteína, quando comparados aos dados das amostras úmidas ⁷².

Medeiros *et al.* empregaram a RMN em baixo campo, em conjunto com PLS para determinar o teor de óleo em sementes de mamona, produzidas por mamoneiras submetidas à irrigação de águas residuárias, de abastecimento e misturas de águas residuárias com águas de abastecimento. A técnica foi eficiente para segregar as sementes oriundas dos diferentes tipos de irrigação e para determinar o teor de óleo nas sementes analisadas ⁵⁸.

Pereira *et al.* propuseram o uso da RMN em baixo campo, utilizando a sequência de pulsos CPMG, em conjunto com a quimiometria, para determinar o parâmetro sólidos solúveis totais (SST) em amostras de ameixas intactas, como alternativa ao método padrão baseado na técnica de refratometria. O valor de SST é um parâmetro para determinar o grau de doçura dessa fruta. Assim, o autor sugere o uso do método para classificar as ameixas em duas categorias, frutas com alto e baixo teor de SST, parâmetro que conduz a bons modelos para predição doçura ⁷³.

Prestes *et al.* utilizaram o sinal de CPMG em conjunto com a quimiometria, obtidos em um RMN em baixo campo, para determinar a qualidade do óleo de sementes com perfil para produção de biodiesel. Além da qualidade do óleo, avaliada em função dos ácidos graxos presentes nas sementes, parâmetros como índice de cetano, índice de iodo e viscosidade cinemática foram correlacionados com os sinais de T_2 . Os autores obtiveram coeficientes de correlação na ordem de 0,9 (R^2) ⁹.

A grande vantagem dos métodos desenvolvidos por meio da RMN em baixo campo, alternativos aos métodos de referência, são baseados nas características da análise por RMN que oferece vantagens como: análises rápidas, não destrutivas e instrumentação de baixa complexidade.

3. OBJETIVOS.

3.1 Geral.

Desenvolver um novo método analítico, de baixo custo, para determinação do teor de biodiesel no Diesel mineral, através da RMN de H^1 de baixo campo, aliada às ferramentas de calibração univariada e multivariada.

3.2 Específicos.

- i. Distinguir diferentes fontes de biodieseis metílicos e etílicos a partir dos tempos de relaxação transversal obtidos pela RMN em baixo campo;
- ii. Desenvolver um método univariado para determinação do teor de biodiesel metílico no diesel, através de RMN em baixo campo.
- iii. Desenvolver um método multivariado para determinação do teor de biodiesel metílico no Diesel, através de RMN em baixo campo a calibração multivariada.
- iv. Construir modelos de calibração multivariada a partir de misturas Diesel/biodiesel etílico obtido pela transesterificação do etanol com óleo de soja;
- v. Comparação da previsão dos modelos univariados e multivariados com valores obtidos por Espectroscopia no Infravermelho Médio, segundo a norma NBR 15.568:2008.
- vi. Testar a eficiência dos métodos na determinação do teor de biodiesel em amostras padrões, bem como em amostras comerciais.

4. MATERIAIS E MÉTODO.

Nesta seção serão apresentados os materiais, os métodos, os equipamentos utilizados e a forma de preparo e armazenamento das amostras, submetidas às medidas de RMN de ^1H de baixo campo.

4.1 Amostras.

Amostras puras de biodiesel metílico de soja, palma, oliva, girassol e biodiesel etílico de soja foram fornecidas pelo Centro Brasileiro de Referência em Biocombustíveis (CERBIO-TECPAR), as amostras de petrodiesel AS500 e AS50 foram fornecidos pela empresa UNIBRASPE – Brasileira de Petróleo S.A e os óleos vegetais foram adquiridos no mercado local. As misturas Bx comerciais foram adquiridas em postos de combustíveis, em diferentes bairros da cidade de Curitiba. Todas as amostras foram armazenadas em ambiente climatizado ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 30 % de umidade) até o momento da análise.

4.2 Equipamentos.

As pesagens foram realizadas em balança analítica digital AND HR-200 ($\pm 0,0001$). As medidas de RMN de ^1H de baixo campo foram realizadas em um espectrômetro Bruker mq-20, operando com um ímã permanente de 0,5 T (Tesla), observando o núcleo de ^1H a 20 MHz, equipado com uma sonda de 18 mm (Figura 16).

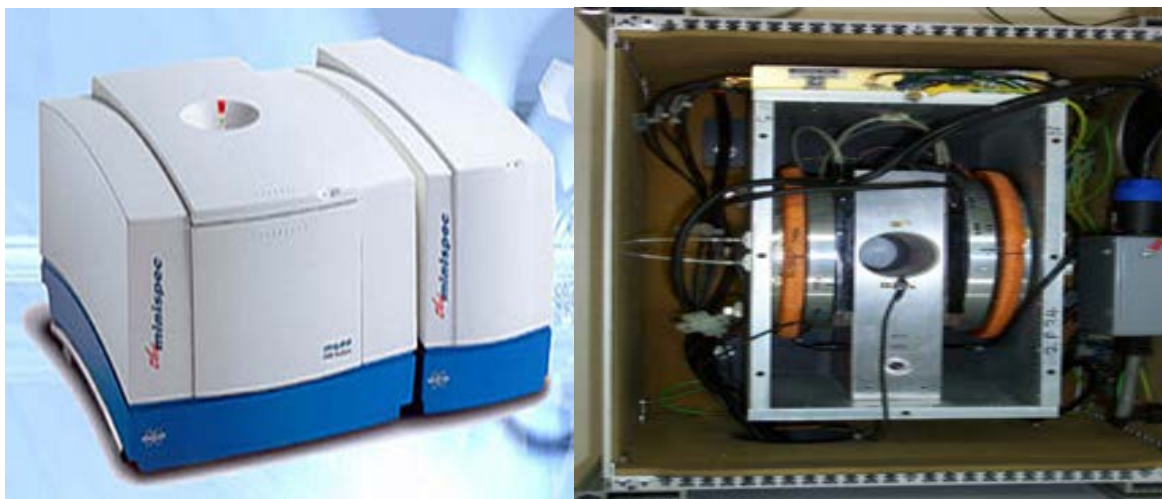


Figura 16. (A) Espectrômetro de RMN em baixo campo Bruker mq20. (B) Parte interna do espectrômetro de RMN baixo campo evidenciando no centro da figura os ímãs permanente e a sonda do equipamento.

O espectrômetro de RMN em baixo campo (Figura 16(A)) possui dois módulos interligados fisicamente. O módulo do magneto, com temperatura controlada, sendo possível obter medidas em temperaturas no intervalo de 35 a 40 °C. O segundo módulo concentra os aparatos eletrônicos do equipamento (Figura 16(B)). O eixo do B_0 é perpendicular à face dos ímãs permanentes, e está orientado paralelamente a bancada do laboratório.

4.3 Programas computacionais.

Para a montagem das matrizes dos dados de relaxação transversal, espectros de relaxometria e para obtenção dos ajustes exponenciais, foi utilizado software Origin Pro 8.0. Os dados de transformada inversa de Laplace foram obtidos pelo software NMR-sim 5.0 da Bruker, baseado no algoritmo CONTIN pelo aplicativo Contin_ITL. Para a elaboração dos modelos de calibração multivariada empregou-se o pacote PLS-toolbox 1.5, que opera em ambiente MatLab v. 4.2 e MatLab v. 6.5.

4.4 Preparo das amostras.

Para a determinação dos tempos de relaxação transversal (T_2), dos núcleos de ^1H , misturas Diesel/biodiesel (v/v %) foram preparadas com auxílio de uma balança analítica e homogeneizadas por agitação manual, nas concentrações de Bx, onde x indica a percentagem de biodiesel em Diesel: B0, B2, B4, B6, B8, B10, B15, B20, B30, B40, B50, B60, B80 e B100. Nenhum preparo adicional foi realizado.

Para a realização dos ensaios alíquotas de 5 mL, de cada amostra, foram transferidas diretamente para os tubos de RMN de 18 mm. Após 24 h do preparo das amostras, estas foram ambientadas em uma caixa térmica de temperatura à 37 ± 2 °C (Figura 17) e após vinte minutos foram transferidas para a sonda do equipamento.

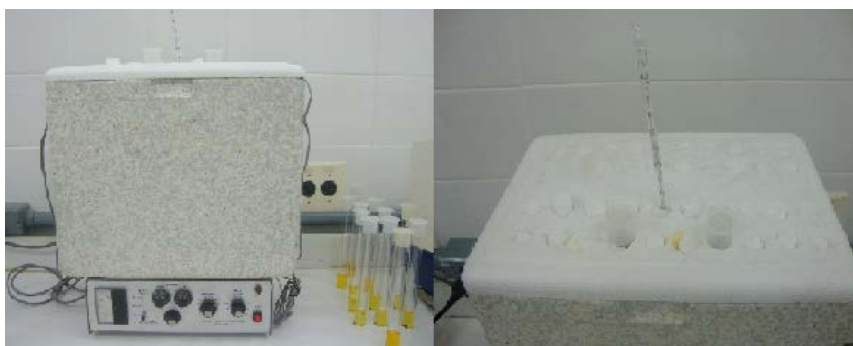


Figura 17. Caixa térmica utilizada para ambientar as amostras à 37 ± 2 °C.

4.4.1 Avaliação da influência da temperatura nas curvas de T_2 .

A influência da temperatura nos experimentos de CPMG foi investigada em duas situações distintas, primeiramente na influência dos tempos de relaxação em três medidas intercorridas (repetibilidade).

Para este experimento 5 mL de amostras de Diesel AS500 (B0), biodiesel metílico de soja (B100) e misturas B4, B8, B80 e B100, preparados em triplicatas, foram transferidas aos tubos de análise do RMN e mantidas em caixa térmica por uma hora para ambientação a 37 °C. Após ambientação as amostras foram transferidas para a sonda do equipamento, e após cinco minutos foram realizados os experimentos.

4.4.2 Análises exploratórias PCA e HCA – discriminação entre grupos de amostras.

Para elaboração das análises exploratórias por PCA e HCA foram transferidos 5 mL de óleo de oliva, óleo de girassol, óleo de soja, biodieseis metílicos de soja, oliva, palma, girassol e biodiesel etílico de soja, Diesel AS50 e Diesel AS500 para os tubos de RMN em baixo campo. As amostras foram preparadas e medidas em triplicatas.

4.4.3 Amostras padrões para calibração univariada e multivariada.

Para o desenvolvimento dos modelos de calibração univariada e multivariada foi primeiramente determinada a densidade das amostras de biodieseis e Deseis. Assim, misturas Bx, em triplicatas, foram preparadas por meio de pesagens nas concentrações de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80 e 100% (v/v), estas amostras foram analisadas e assim obtidas às curvas de relaxação transversal.

4.5 Aquisição das medidas de CPMG de RMN de ^1H de baixo campo.

Os tempos de relaxação transversal foram obtidos a 37 °C com auxílio da sequência de pulsos Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG: {RD – 90° – τ – [(180°₉₀ – τ –)DE (180°₉₀ – τ –) asd – τ –]N}NS). As curvas de decaimento de T_2 foram obtidas empregando-se 0,5 ms de tempo de duração do eco (τ), intervalo de reciclo entre pulsos de 10 s (RD), duração dos pulsos de radiofrequência de 90° e 180° foram de 15,66 e 32,28 μs , respectivamente. As curvas de eco foram registradas com 1000 pontos (N), os ecos foram registrados durante 8 segundos e quatro varreduras (NS). O registro dos ecos foi a cada quatro ecos realizados, para eliminar deformidades causadas pela eletrônica do equipamento principalmente na coleta dos ecos iniciais. Antes da aquisição de T_2 as amostras foram ambientadas à 37 ± 2 °C durante vinte minutos com auxílio de uma caixa

térmica. Além das curvas de decaimento de T_2 , foram obtidos os espectros de relaxometria por meio do emprego da transformada inversa de Laplace.

O tempo de eco (τ) depende do tipo de amostras que está sob investigação, desta forma o valor de τ foi testado inúmeras vezes. Ao final dos pulsos CPMG, o equipamento gera automaticamente um perfil de curva de decaimento exponencial e com auxílio do software é possível extrair os tempos de relaxação transversal (T_2).

4.6 Desenvolvimento das análises exploratórias por PCA e HCA e modelos de calibração multivariada por PLS.

As análises exploratórias por meio da análise de componentes principais (PCA) e análise hierárquica de agrupamentos (HCA) foram realizadas a partir das curvas de relaxação transversal e dos espectros de relaxometria das amostras puras, ou seja, amostras de biodieseis metílicos de soja, girassol, palma e oliva, biodiesel etílico de soja, Deseis AS500 e AS50, óleos vegetais de soja, oliva e girassol.

Para o desenvolvimento da PCA foi montada uma matriz de 36 linhas referentes às amostras analisadas, por 1000 colunas referentes ao número de coleta das curvas de relaxação de T_2 , nenhum pré-processamento foi aplicado aos dados originais. Já para o desenvolvimento da HCA foi montada uma matriz de 36 linhas por 250 colunas, nenhum pré-processamento foi aplicado aos espectros de relaxometria.

4.7 Construção de Modelos Univariados de quantificação.

O modelo univariado para quantificação das misturas Diesel/biodiesel foi elaborado pela construção de curva analítica, por meio da relação entre concentração de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 versus dados do ajuste biexponencial. A análise de variância de dados (ANOVA) foi utilizada para verificar o ajuste do modelo.

4.8 Desenvolvimento dos modelos de calibração multivariado pela PLS.

Os modelos de calibração multivariados, pela PLS, foram desenvolvidos a partir das curvas de decaimento de T_2 e dos espectros de relaxometria das misturas Diesel/biodiesel, obtidos em triplicata. Para o desenvolvimento da PLS, a partir das curvas de T_2 , foi construída uma matriz de 39 linhas por 1000 colunas, já para a PLS, a partir dos espectros de relaxometria, foi construída uma matriz de 39 linhas por 250 colunas. Modelos de PLS, construídos a partir das curvas de T_2 , foram testados sem aplicação de pré-processamento e com pré-processamento alisamento e normalização. Enquanto que modelos PLS, desenvolvidos a partir dos espectros de relaxometria, foram

testados sem aplicação de pré-processamento e com aplicação de alisamento aos dados originais.

A capacidade preditiva dos modelos multivariados foi avaliada por meio de um conjunto de validação externa, composto por amostras nas concentrações B0, B3, B5, B12, B25, B45 e B70, preparadas em duplicatas.

4.9 Análise por espectroscopia no infravermelho médio das misturas Bx.

Os teores de Bx do conjunto de amostras preparadas para a fase de validação externa dos modelos de calibração PLS-P1, contendo biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, foram analisados pelo método proposto no presente trabalho, por meio da RMN em baixo campo, e os resultados destes confrontados com o método padrão, por espectroscopia na região do infravermelho médio. Os espectros de infravermelho médio foram obtidos em um espectrômetro de infravermelho MIDAC FOX 8100. Os espectros vibracionais foram adquiridos no modo de reflectância com 36 varreduras, resolução de 4 cm^{-1} , região espectral de 4000-650 cm^{-1} , com o auxílio do acessório de reflectância total atenuada (ATR), com cristal de seleneto de zinco (ZnSe). Os espectros foram processados com o auxílio do software PETROQUANT versão 1.0.

4.10 Análise de amostras Bx comerciais.

Amostras comerciais de combustível Diesel/biodiesel foram adquiridas em postos de combustível em diferentes locais de Curitiba. Todas as amostras deveriam possuir o teor de 5% (v/v) de biodiesel no Diesel, conforme regulamentação da ANP. As amostras adquiridas no comércio foram nomeadas como: D1, D3, D5, D6 e D7 para identificar as amostras contendo Diesel AS500 mais biodiesel de origem desconhecida; D2 para a amostra contendo Diesel AS50 mais biodiesel de origem desconhecida; D4 amostra contendo Diesel AS10 mais biodiesel de origem desconhecida. Ainda por meio de inspeção visual foi possível observar que todos os combustíveis BS500 sofreram a adição de corante.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Determinação dos parâmetros de análise.

5.1.1 Sequência de pulsos CPMG

A sequência de pulsos CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill), detalhada na equação 12, foi escolhida por ser uma sequência simples e eficiente para determinação de T_2 , além do fato de minimizar a relaxação transversal causada pela falta de homogeneidade do campo magnético e de imperfeição dos pulsos de RF ⁴⁹.

$$\{RD - 90^\circ_x - \tau - [(180^\circ_y - \tau)_{DE} (180^\circ_y - \tau)_{asd} - \tau]_N\}_{NS} \quad (12)$$

Onde: RD (*recycle delay*) é o tempo necessário para alcançar a estabilização dos spins; tau (τ) é o tempo entre pulsos e 2τ tempo de duração do eco; DE (*dummy echoes*) são os primeiros ecos não registrados; N são os números de pontos coletados para descrever a curva de decaimento transversal e NS é o número de varreduras ou *scans*.

Inicialmente a sequência de pulsos CPMG foi avaliada sobre uma série de misturas Bx de Diesel mineral AS500, contendo de 0 a 100 % de biodiesel de soja metílico (v/v), no seguinte intervalo de concentração, preparados em duplicatas: 0, 6, 20, 50, e 100. Assim, foi possível determinar os parâmetros de análise a serem utilizados para adquirir as curvas de decaimento da magnetização induzida, bem como dos tempos de relaxação transversal (T_2). Os parâmetros analíticos aqui determinados foram posteriormente utilizados na análise exploratória por PCA e HCA, bem como para modelar as curvas analíticas pelos métodos da calibração univariada e multivariada (PLS).

Nos experimentos foram avaliados: o número de pontos necessários para obtenção do perfil total da curva de T_2 ; duração do pulso de 90° e 180° , aplicados na sequência de pulsos CPMG; tempo de reciclo entre a repetição da sequência de pulsos; tempo de atraso entre pulsos e tempo de duração do eco (τ).

As curvas de decaimento transversal devem apresentar um perfil total do decaimento da magnetização, para isso é necessário observar a amplitude nula, ou próxima à zero nos pontos finais da curva de T_2 . Do contrário o ajuste retorna a um deslocamento que pode variar de um ajuste para os próximos, alterando o valor real de T_2 investigado⁵⁰. Todos os experimentos foram realizados a 37°C .

O perfil ótimo das curvas de T_2 , obtidos experimentalmente, estão representados na figura 18. As curvas apresentaram perfil exponencial e ao final dos 8 s a magnetização final apresentou valor próximo à zero, para o intervalo de concentração de B0 a B100, intervalo de concentração de Bx que será utilizado na construção dos modelos de calibração.

As curvas de T_2 foram obtidas empregando-se 0,5 ms de tempo de duração do eco (τ), intervalo de reciclo entre pulsos de 10 s, duração do pulso de radiofrequência 90° de 15,66 μ s e 180° de 32,28 μ s e 1000 pontos para registro da curva de T_2 . Os ecos foram registrados durante 8 segundos, com quatro varreduras. O registro de ecos foi feito a cada seis ecos realizados, tal procedimento elimina deformidades causadas pela eletrônica do equipamento principalmente na coleta dos ecos iniciais⁵⁰.

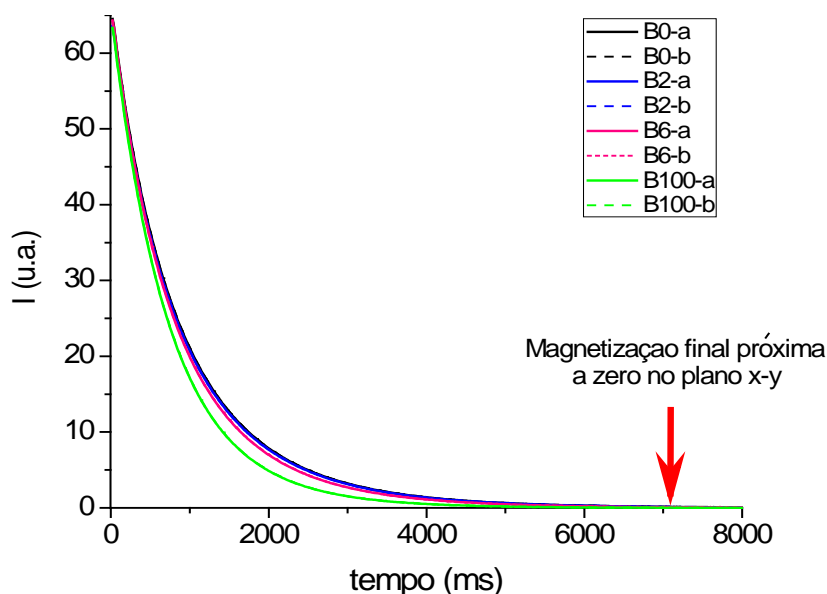


Figura 18. Perfil ótimo do decaimento da magnetização induzida por T_2 , obtido experimentalmente, pela sequência de pulsos CPMG.

5.1.2 Controle da temperatura nos experimentos

Durante os ensaios para determinação dos parâmetros analíticos foi verificada discordância nos perfis das curvas de T_2 , quando as mesmas eram submetidas a ensaios sequenciais. Essas diferenças foram observadas nas misturas Bx e nas amostras puras de Diesel AS500 e biodiesel metílico de soja.

Para observar o efeito da discordância nos perfis de T_2 , de medidas de amostras idênticas (repetibilidade), os dados foram submetidos à análise de componentes principais (PCA). Por meio da figura 19, observa-se a dispersão das amostras medidas

em triplicatas (B0, B4, B8, B80 e B100) de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500. Um deslocamento sistemático foi observado nas misturas Bx e amostras puras, ou seja, tanto as misturas quanto as amostras puras de biodiesel metílico de soja e Diesel sofreram um deslocamento na direção de valores positivos de PC 2. Já na PC 1 houve também um deslocamento sistemático no sentido de valores positivos maiores da PC 1, no entanto, esse deslocamento ocorreu no mesmo quadrante (quadrante positivo) e além disso o deslocamento apresentou-se bastante sutil. A dispersão dos dados, observados na figura 19, foi mais impactante na PC 2 a qual representa somente 0,34 % da variância dos dados, diante desse fato podemos observar que as diferenças entre as misturas Bx são indicadas nos detalhes das curvas de relaxação transversal. Desta forma, como as amostras contendo somente biodiesel metílico de soja e Diesel AS500 apresentaram curvas de T_2 distintas, os erros de preparo de amostras foram descartados *a priori*.

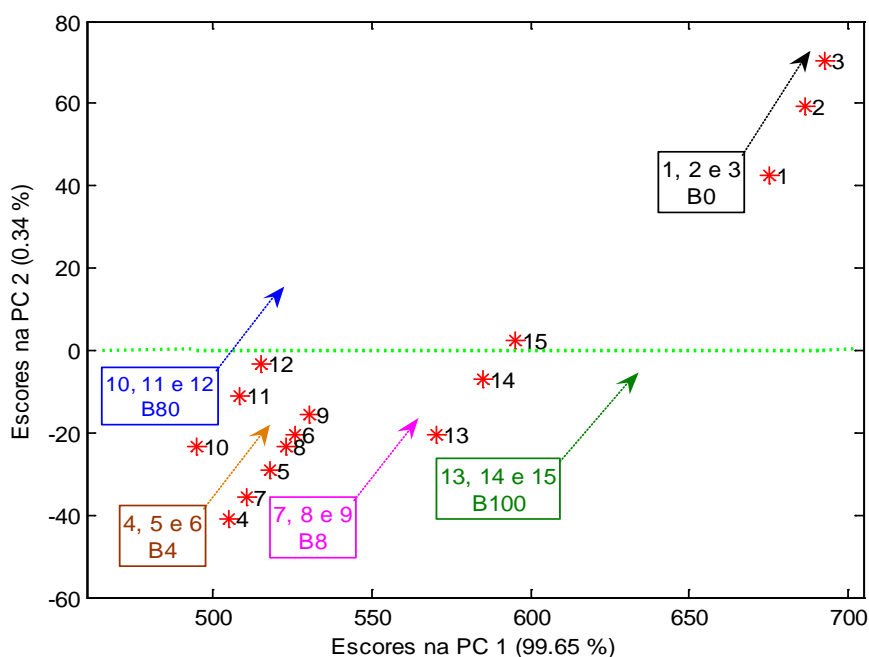


Figura 19. PCA de amostras de Diesel e biodiesel metílico de soja, medidas em ensaios sequenciais, para estudo da influência da temperatura nos experimentos.

Assim, o fator temperatura foi investigado e controlado, visto que as medidas de RMN em baixo campo são fortemente influenciadas por pequenas variações de temperatura, durante os ensaios, principalmente para misturas Bx com baixos teores de biodiesel ¹⁰.

Inicialmente amostras nas concentrações B0, B4, B8, B80 e B100 foram medidas em duas situações distintas. Primeiro as amostras foram transferidas para a sonda do

equipamento, que opera a 37°C e após cinco minutos, para ambientação, estas foram medidas em triplicatas. No segundo momento, antes das medidas, as amostras foram ambientadas em uma caixa térmica a $37^{\circ}\text{C} \pm 2$ durante vinte minutos.

Para observar o comportamento das amostras medidas em triplicatas as curvas de T_2 foram submetidas à ILT. A figura 20 ilustra os espectros de relaxometria, obtidos com auxílio do programa NMR-sim 5.0 da Bruker, baseado no algoritmo do CONTIN. A ILT fornece um espectro contínuo da distribuição dos tempos de relaxação T_2 , denominado de espectro de relaxometria⁶². A ILT deu origem a dois sinais nos espectros de relaxometria, tanto para as amostras de biodiesel de soja puro (B100) quanto para as amostras de Diesel AS500 e misturas Bx.

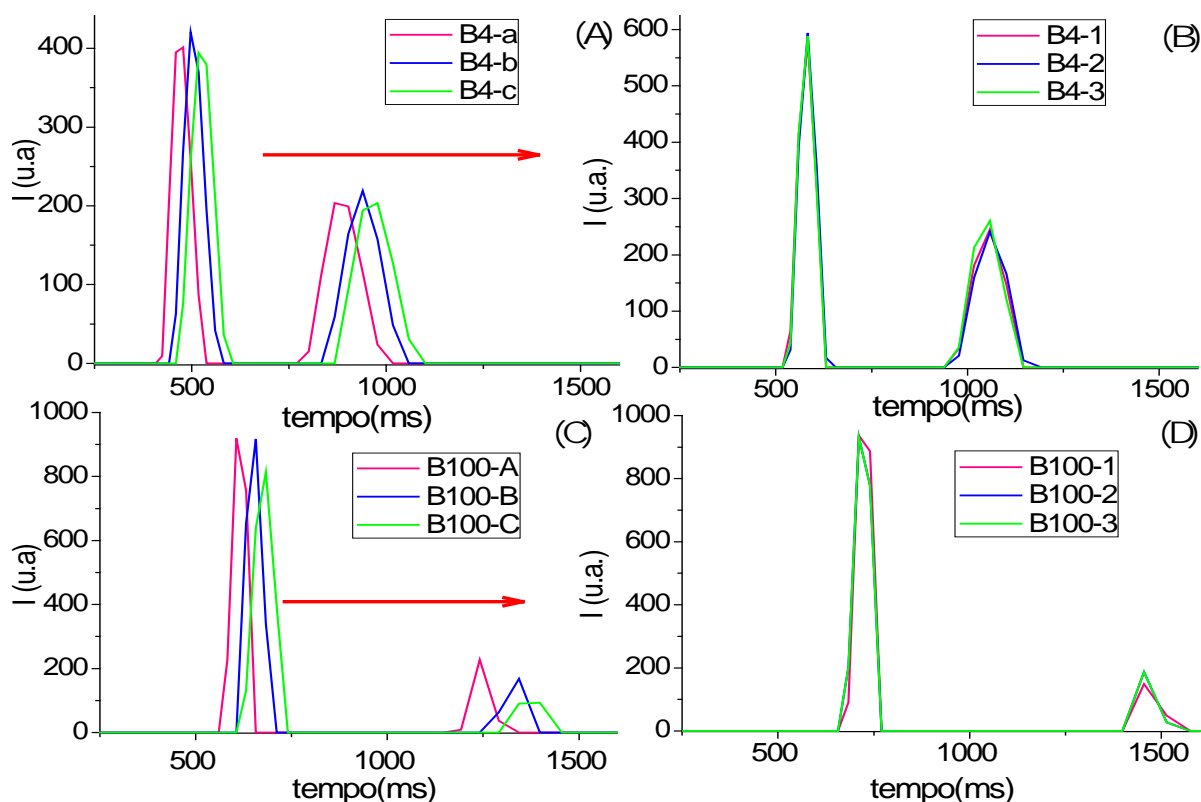


Figura 20. Espectros de relaxometria obtido através da ILT, aplicada sobre as curvas de T_2 , para estudo da influência da temperatura sobre as medidas de relaxação transversal. (A) mistura B4 de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500 sem controle de temperatura, (B) mistura B4 de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500 com controle de temperatura, (C) biodiesel metílico de soja sem controle de temperatura e (D) biodiesel metílico de soja com controle de temperatura.

Analisando em detalhes as amostras B4 e B100 (Figura 20 (A) e 20 (C)), medidas em triplicatas e sem ambientação prévia na caixa térmica, observamos um deslocamento

padrão das bandas no sentido de maiores tempos de T_2 , além dessas apresentarem valores de intensidade de sinais distintos. Por outro lado, as mesmas amostras, B4 e B100 (Figura 20 (B) e 20 (D)), quando foram previamente ambientadas em caixa térmica a 37 °C durante vinte minutos, apresentaram triplicatas visualmente sobreponíveis, o que era esperado para espectros de amostras iguais.

Com base nos experimentos descritos foi possível detectar a forte influência de pequenas variações de temperatura nos ensaios de RMN em baixo campo. O comportamento do aumento sistemático do tempo de relaxação, das amostra B4-a a B4-c (Figura 20 (A) e B100-a a B100-c (Figura 20 (C)), pode ser atribuído a diminuição da viscosidade destas em função do aumento da temperatura das amostras, causada pela falta de ajuste da temperatura da amostra a temperatura da sonda do equipamento.

5.2 Curvas de decaimento de T_2 e a Transformada Inversa de Laplace (ILT).

Inicialmente foi investigado o comportamento dos tempos de relaxação de amostras de biodieseis, Deseis e óleos vegetais. Para isso curvas de relaxação transversal foram obtidas para quatro tipos de óleos vegetais (oliva, coco, soja e girassol), quatro tipos de biodieseis metílicos (soja, girassol, oliva e palma), um tipo de biodiesel etílico de soja e dois tipos de Deseis (AS500 e AS50).

Por meio das curvas de relaxação transversal (Figura 21) é possível visualizar que os óleos vegetais relaxam mais rapidamente (menores valores de T_2), quando comparado com as amostras de Deseis e biodieseis. Já as amostras de Deseis e biodieseis apresentaram tempos de relaxação semelhantes, porém não idênticos. Nota-se que as amostras de biodiesel apresentam valores de relaxação transversal intermediários entre os óleos vegetais e óleos Deseis. O maior tempo de relaxação foi observado para amostra de óleo Diesel AS500, seguido das amostras de Diesel AS50 e posteriormente pelas amostras de biodieseis (Figura 21).

Os tempos de relaxação transversal são fortemente influenciados pela propriedade física viscosidade. No caso de biodieseis, Deseis e óleos vegetais é possível observar que quanto maior a viscosidade da amostra menor será seu valor de tempo de relaxação transversal⁹. Assim, as curvas de T_2 dos biodieseis, óleos vegetais e óleos deseis, que são fortemente dependentes da viscosidade, apresentam perfis de decaimento distintos (Figura 21).

Sendo a viscosidade uma medida da resistência do fluido ao escoamento, ou seja, uma medida da organização do sistema, ela está relacionada à estrutura dos

triacilgliceróis, ésteres graxos e hidrocarbonetos formadores dos óleos vegetais, biodieseis e Deseis, respectivamente. Logo, as medidas de T_2 serão influenciadas pelo tamanho e pelo grau de insaturação da cadeia carbônica do composto analisado ^{24, 72}.

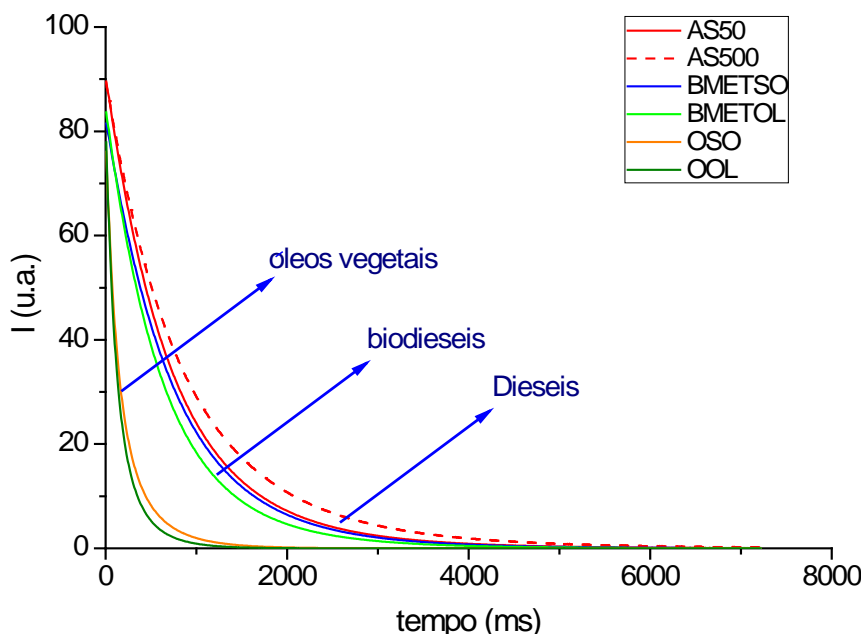


Figura 21 Curvas de relaxação transversal (T_2) das amostras puras de Diesel AS50 (AS50), Diesel AS500 (AS500), biodiesel metílico de oliva (BMETOL), biodiesel metílico de soja (BMETSO), óleo vegetal de oliva (OOL) e óleo vegetal de soja (OSO).

A partir das curvas de decaimento transversal foram obtidos os espectros de relaxometria pela aplicação da transformada inversa de Laplace (ILT), para verificar quantos domínios de tempos estavam presentes nas amostras (Figura 22).

Para os óleos vegetais foram observados três tempos de relaxação distintos, com o primeiro pico iniciando em cerca de 80 ms e o terceiro pico em cerca de 500 ms. Analisando os espectros de relaxometria (Figura 22) dos óleos vegetais, picos entorno de 80 a 500 ms, observa-se compostos com perfis de decaimento transversal rápido, quando comparado aos Deseis e biodieseis. Os óleos vegetais são formados predominantemente por ésteres de triacilgliceróis, cerca de 95 %, e de pequenos teores de mono e diacilgliceróis, além de ácidos graxos livres, proteínas, esteróis e vitaminas. Como os óleos vegetais são formados predominantemente por ésteres de triacilgliceróis, os quais apresentam estruturas químicas de cadeias carbônicas grandes, era esperado que essas amostras apresentassem menores valores de relaxação transversal, já que o aumento da cadeia carbônica proporciona uma menor mobilidade molecular.

Os ésteres graxos dos biodieseis apresentaram sinais entre 500 e 1600 ms (Figura 22), indicando compostos com maior mobilidade molecular quando comparados aos óleos vegetais. Já comparando os biodieseis metílicos de soja e oliva observa-se que o biodiesel metílico de soja apresenta valores maiores de T_2 para o primeiro e segundo pico, o que pode ser explicado pelo maior teor de ésteres graxos poliinsaturados presentes na composição do biodiesel de soja (Tabela 1). As insaturações aumentam o tempo de relaxação dos compostos, pois diminuem a organização do sistema. Os ésteres graxos poliinsaturados possuem cadeias alquílicas não lineares, o que dificulta o empacotamento das mesmas, portanto, são mais desordenadas o que causa um aumento em T_2 .

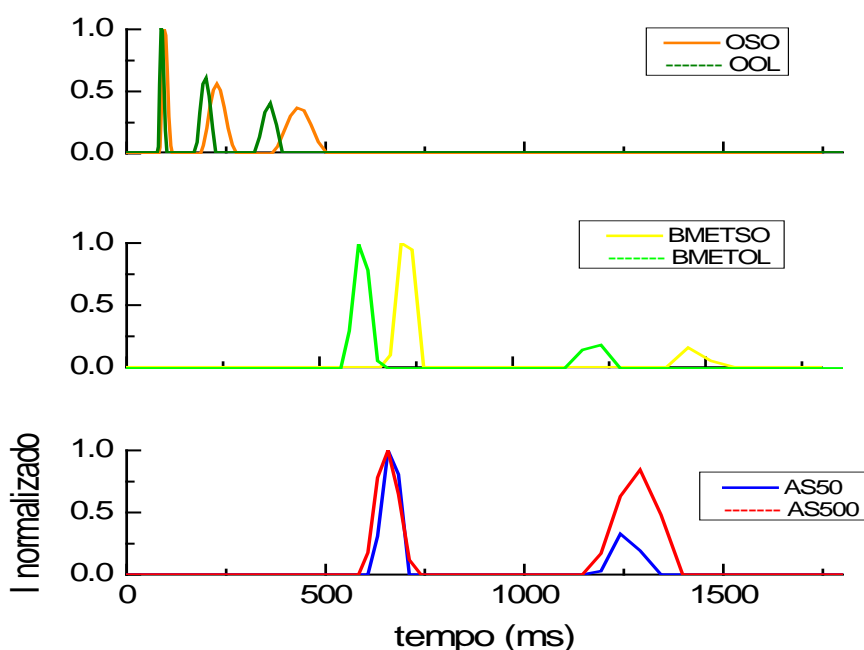


Figura 22 Espectros de relaxometria (ILT) normalizados das amostras puras de Diesel AS50 (AS50), Diesel AS500 (AS500), biodiesel metílico de oliva (BMETOL), biodiesel metílico de soja (BMETSO), óleo vegetal de oliva (OOL) e óleo vegetal de soja (OSO).

As amostras de biodieseis apresentaram dois domínios de tempo em seus espectros de relaxometria, com exceção do biodiesel de girassol, o qual não apresentou separação adequada entre os dois picos. Sendo que os domínios de tempo apresentam valores bem superiores ao ser comparado com os óleos vegetais. Tal fato está associado a transesterificação, reação em que moléculas de triacilgliceróis são fragmentadas em moléculas menores, o biodiesel. Assim a mobilidade molecular das amostras é aumentada, resultando em tempos de relaxação maiores quando comparados aos óleos vegetais (Figura 22).

O Diesel mineral apresentou dois domínios de tempo nos espectros de relaxometria, tanto para o óleo Diesel AS500 quanto para o AS50. É possível observar que o segundo pico, entre 1000 e 1500 ms, para o Diesel AS500 é mais intenso quando comparado ao Diesel AS50. Este fato, provavelmente, está associado ao processo de dessulfurização, o qual altera a composição química do Diesel. No processo HDT algumas insaturações acabam sendo hidrogenadas, diminuindo assim o teor de compostos aromaticos e olefinicos no Diesel AS50. Isto pode ser comprovado através da comparacao dos espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de ambos os Dieseis. Podemos observar que os sinias relativos a carbonos olefinicos e aromaticos estão menos intensos no Diesel AS50, quando comprados com o Diesel AS 500 (Figura 23).

Ainda por meio da figura 22 é possível notar a similaridade da mobilidade molecular das amostras de Dieseis e biodieseis, já que apresentam tempos de relaxação bastante próximos. Esta constatação indica que haverá dificuldade na construção de curvas de calibração para determinar o teor de biodiesel no Diesel.

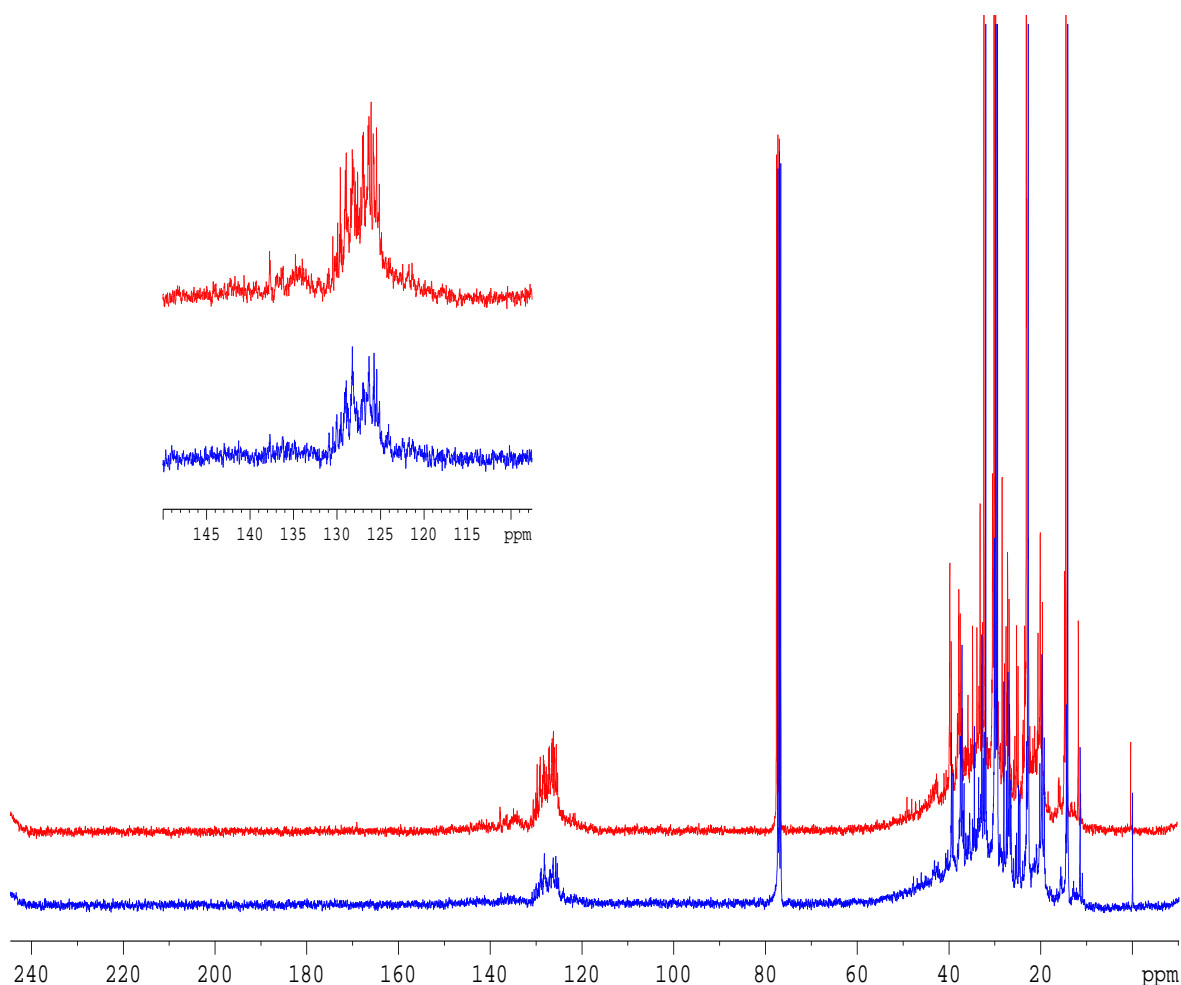


Figura 23. Espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de Diesel AS500 (superior) e Diesel AS50 (inferior).

5.3 Análises exploratórias dos dados de RMN de ^1H de baixo campo.

Para verificar o comportamento das amostras frente as medidas de RMN em baixo campo, e assim observar se existem características distintas entre elas, foi realizada a PCA sobre as curvas de decaimento de relaxação transversal das amostras puras de biodieseis, Deseis e óleos vegetais.

PCA's com emprego de pré-processamento foram testados, mas não apresentaram resultados superiores as PCA's sem pré-processamento. A PCA com duas componentes principais explicou 99,85 % da variância dos dados sendo 97.86 % para PC 1 e 1,99 % para PC 2 (Figura 24).

A PCA evidenciou que os óleos vegetais se distinguem acentuadamente das amostras de biodieseis e Deseis já que os óleos vegetais puros aparecem em altos valores positivos de PC 2, enquanto que os Deseis estão em valores negativos de PC 2. Os biodieseis etílicos de soja, metílico de palma e metílico de oliva aparecem em escores positivos de PC 2, enquanto que os biodieseis metílicos de soja e girassol foram alocados em escores negativos da PC 2 e próximos aos Deseis (Figura 24).

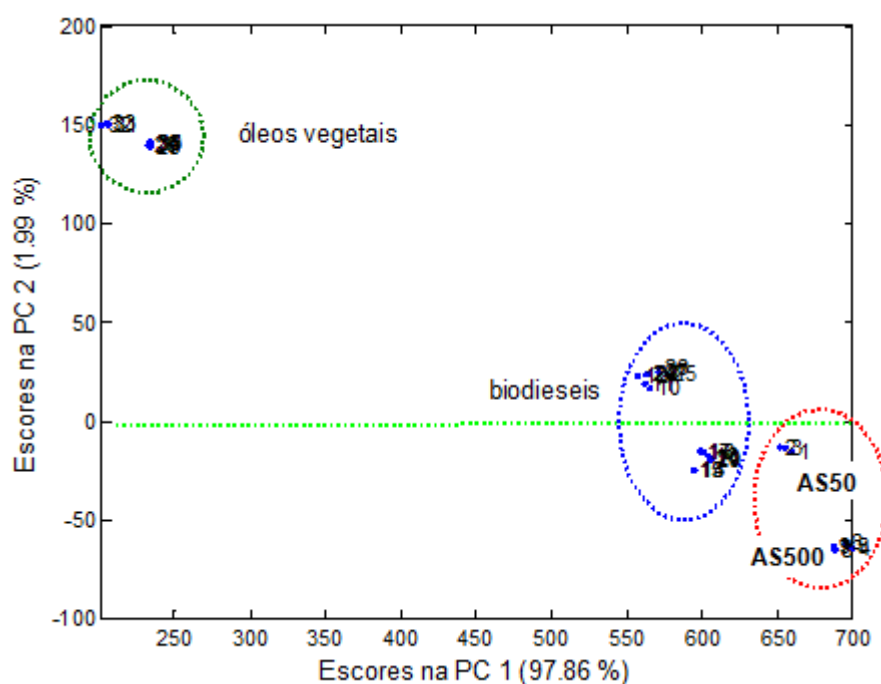


Figura 24. (A) Gráfico de escores na PC 1 (97,86 %) versus PC 2 (1,99 %) discriminando as amostras de biodieseis, óleo vegetais, Deseis AS500 e Deseis AS50

A PCA demonstrou que as amostras de biodieseis possuem características semelhantes àsquelas de óleos Deseis. Este fato também indica uma similaridade alta

entre biodieseis e Deseis, sugerindo que haverá maior dificuldade no desenvolvimento do método de quantificação, principalmente para misturas Diesel AS50/biodiesel uma vez que as amostras de Deseis AS50 aparecem muito próximas as diferentes fontes de biodieseis na PCA (Figura 24). O fato das amostras de Diesel AS50 terem sido alocadas próximas as amostras de biodiesel demonstra que as mesmas possuem características físicas semelhantes o que resulta em tempos de relaxação T_2 similares (Figura 24).

Pelo gráfico de variáveis originais versus *loadings* (Figura 25) observa-se o peso com que cada variável original, das curvas de T_2 , representou para a elaboração das duas componentes principais da PCA. A PC 1, responsável por explicar quase a totalidade da variância dos dados (97,86 %), utilizou todo o perfil da curva de decaimento de T_2 para discriminar os óleos vegetais, biodieseis e Deseis. Desta forma, verificamos que o grupo formado por óleos vegetais foram separados das demais amostras por influência de todas as variáveis da curva de decaimento T_2 , ou seja, toda a curva de decaimento influenciou fortemente na separação destas amostras em relação às demais.

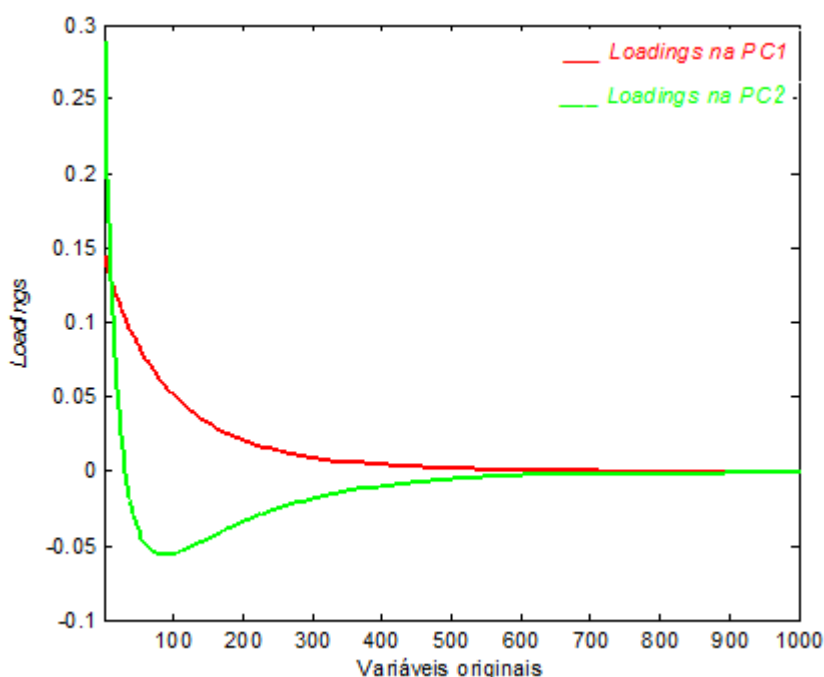


Figura 25. Influência dos *loadings* sobre as variáveis originais, na construção da PCA.

Os diferentes tipos de biodieseis e Deseis foram separados entre si pela PC 1 e pelos detalhes das curvas de relaxação transversal, já que ambos apresentam valores negativos ou próximos de valores negativos de PC 2. Pelos *loadings* na PC 2 (Figura 25) verificamos que os biodieseis e deseis foram separados entre si por influência do perfil da curva de T_2 que corresponde ao ponto de diferenciação dos tempos de relaxação. As

variáveis originais de valores entre 80 e 120 (Figura 25) representam o tempo requerido para que a magnetização transversal do vetor alcance 37 % da sua magnitude após a excitação inicial. Exatamente a 37 % da magnitude inicial são calculados os valores de T_2

33.

Além da PCA foi aplicada a análise exploratória de dados por análise de agrupamento hierárquico (HCA), a qual consiste no tratamento matemático de cada amostra como um ponto no espaço multidimensional descrito pelas variáveis escolhidas⁶⁶. Na HCA cada amostra é localizada em um ponto no espaço de um plano bidimensional determinado pelas variáveis informadas, os grupos são formados por meio de similaridade da sua localização vetorial, ou seja, quanto mais próximas as amostras estiverem mais similares serão. A HCA foi realizada pelo método de classificação k-Nearest Neighbor, o qual é um dos algoritmos de predição de classes mais simples, sendo que nenhum pré-processamento foi aplicado⁷⁵. Além disso, a distância entre amostras foi calculada utilizando a localização das amostras na PC 1, assim utilizando uma componente principal foi possível formar um grupo com Diesel AS500 e AS50, porém ao utilizar duas componentes principais as amostras de Diesel AS50 ficaram agrupadas com as amostras de biodieseis, confirmando mais uma vez a similaridade entre eles.

A HCA apresentou uma discriminação bastante semelhante àquela observada pela PCA, evidenciando que as amostras de óleos vegetais são bastante distintas das amostras de biodieseis e Deseis e que estas últimas são mais similares entre si (Figura 26). No entanto, na HCA é possível observar claramente que os grupos de dieseis foram segregados do grupo de biodieseis, apesar de serem bastante próximos.

Por meio do dendograma podemos verificar a similaridade entre as amostras de óleo de soja e girassol, que por sua vez se distinguiram daquelas de óleo de oliva. Esta observação era esperada, uma vez que os óleos de soja e girassol possuem composição química de ésteres graxos bastante semelhantes, enquanto que o grupo formado por óleo de oliva apesar de ter sido alocado muito próximo aos demais óleos pôde ser diferenciado dos demais, provavelmente devido a sua diferente composição química, a qual é mais pobre em ésteres graxos poliinsaturados, quando comparada a dos óleos de soja e girassol. Essa característica é transferida para os biodieseis, conforme descrito a seguir.

A HCA ainda evidenciou que é possível distinguir as amostras de acordo com a fonte de biodiesel. Esta discriminação, a exemplo dos óleos vegetais, se deve a

diferentes composições das amostras, ou seja, no caso dos biodieseis aos diferentes teores de ésteres graxos presentes nas amostras de biodieseis. Os biodieseis metílicos puderam ser discriminados em quatro grupos. O biodiesel metílico de soja ficou próximo ao biodiesel metílico de girassol, o que está de acordo com suas composições químicas, ricos em ácido oléico (23,5 – 31,0 %) e linoléico (49 – 51,5 %)(Tabela 1). Os outros dois grupos contêm as amostras de biodiesel metílico de palma, rico em ácido palmítico (38 - 53 %) e ácido oléico (6 – 12 %) e biodiesel metílico de oliva rico em ácido oleico (64 – 84 %) e ácido linoléico (4 – 15 %) (Tabela 1). Já as amostras de Deseis e biodieseis, como na PCA, puderam ser discriminadas em dois grandes grupos, embora tenham sido alocadas no espaço vetorial em posições bem próxima, se comparadas aos óleos vegetais aos biodieseis e Deseis. Ainda, as amostras de Deseis no dendrograma foram discriminadas entre si de acordo com o teor de enxofre presente nessas, devido ao fato das amostras de Diesel AS50 possuírem um menor teor de compostos aromáticos e olefínicos, quando comparado as amostras de AS500 (Figura 26).

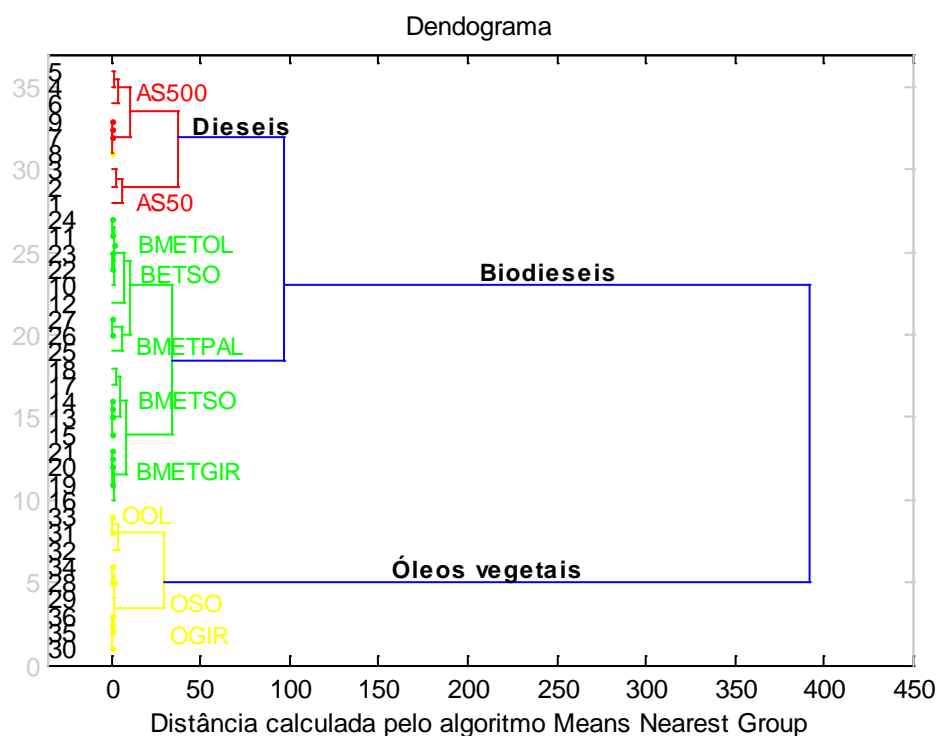


Figura 26. Dendrograma (sem escala) das curvas de T_2 das amostras puras de Diesel AS50 (AS50), Diesel AS500 (AS500); biodiesel metílico de oliva (BMETOL), biodiesel etílico de soja (BETSO), biodiesel metílico de palma (BMETPAL), biodiesel metílico de girassol (BMETGIR), biodiesel metílico de soja (BMETSO); óleo vegetal de oliva (OOL), óleo de soja (OSO) e óleo de girassol (OGIR).

Após utilizar as curvas de relaxação transversal nas análises exploratórias, estas foram convertidas a espectros de relaxometria pela aplicação da ILT e submetidas à PCA e HCA. A análise exploratória de PC 1 versus PC 2, dos espectros de relaxometria, mostrou que as amostras de óleos vegetais apresentam-se agrupadas e distintas das amostras de biodieseis e Deseis (Figura 27). Este resultado é bastante semelhante àquele descrito pela análise exploratória por PCA utilizando as curvas de decaimento de T_2 como variáveis (Figura 24).

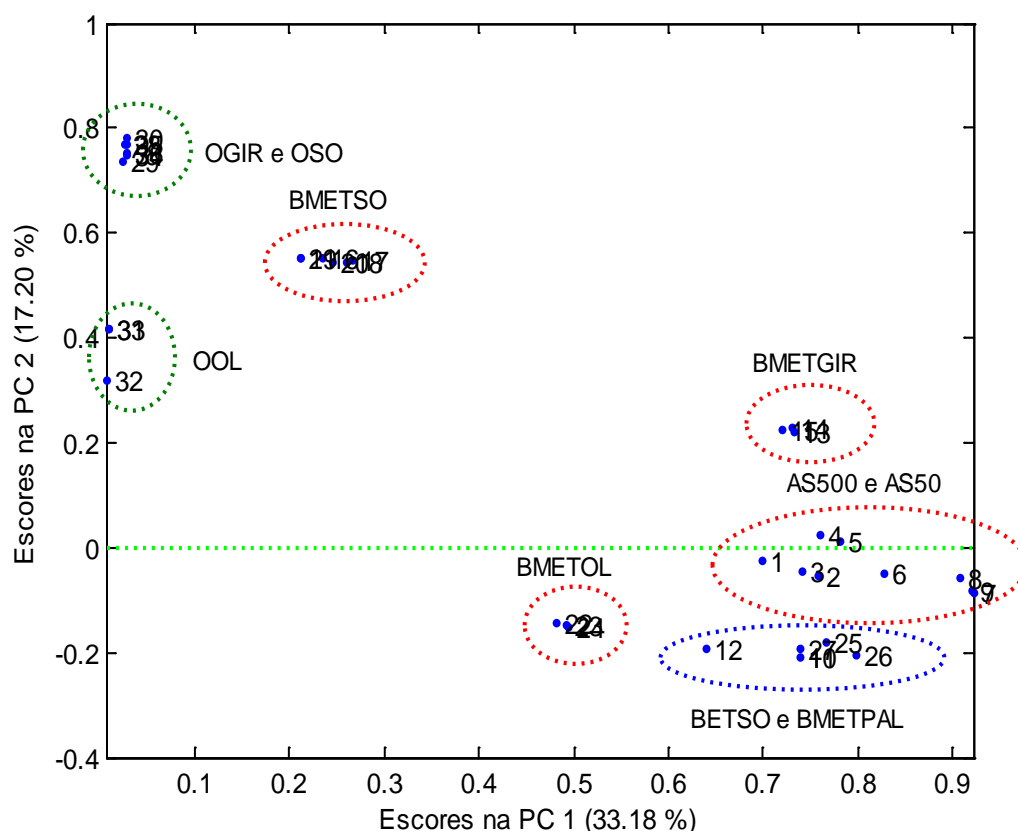


Figura 27. Gráfico de escores de PC 1 (33,18 %) versus PC 2 (17,20 %) dos espectros de relaxometria das amostras puras Diesel AS50 (AS50), Diesel AS500 (AS500); biodiesel metílico de oliva (BMETOL), biodiesel etílico de soja (BETSO), biodiesel metílico de palma (BMETPAL), biodiesel metílico de girassol (BMETGIR), biodiesel metílico de soja (BMETSO); óleo vegetal de oliva (OOL), óleo de soja (OSO) e óleo de girassol (OGIR).

A análise exploratória por HCA dos espectros de relaxometria das amostras puras de óleos vegetais, biodieseis e Deseis apresentou agrupamento diferenciado ao observado anteriormente pela análise por HCA a partir das curvas de T_2 . A HCA propiciou uma inadequada distinção entre as amostras de Deseis, biodieseis e óleos vegetais, já que não houve o agrupamento das amostras conforme o esperado, ou seja, por classes de amostras (biodieseis, óleos vegetais e Deseis) (Figura 28). Isso demonstra que os

espectros de relaxometria são mais pobres em informações sobre as amostras, ou seja, a ILT utilizada para a aquisição dos espectros de relaxometria ao resolver os espectros perde algumas informações dos dados originais, as curvas de T_2 , de modo a obter a melhor resolução da transformada inversa de LaPlace.

As observações obtidas pelas análises exploratórias por PCA e HCA, das curvas de T_2 e espectros de relaxometria das amostras puras de biodieises, Dieiseis e óleos vegetais, reforçam a hipótese de que as curvas de decaimento de T_2 podem fornecer resultados mais adequados, do que os espectros de relaxometria, no desenvolvimento do método de determinação do teor de biodiesel no Diesel.

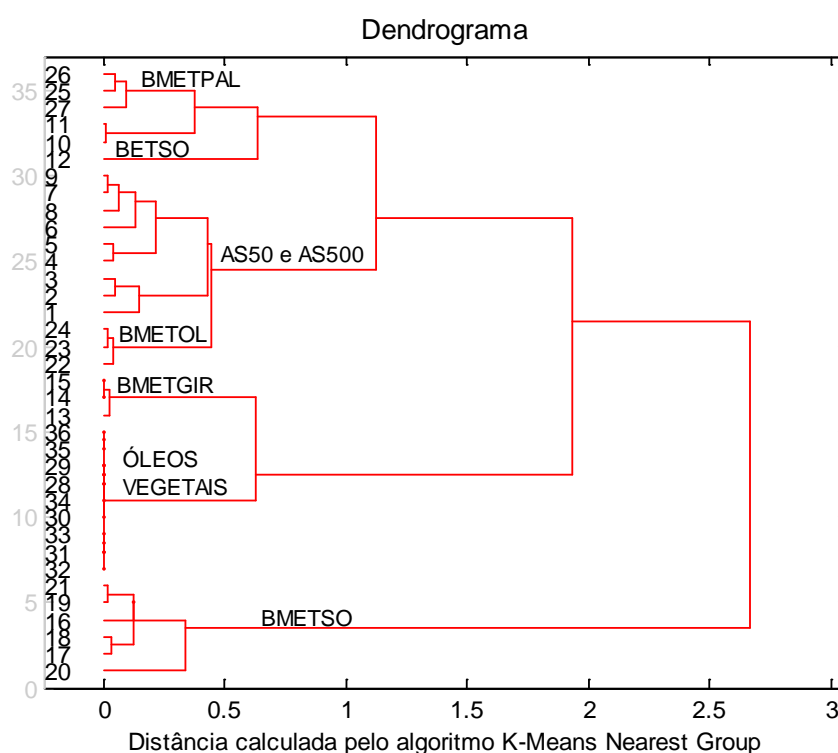


Figura 28. HCA dos espectros de relaxometria das amostras puras de Diesel AS50 (AS50), Diesel AS500 (AS500); biodiesel metílico de oliva (BMETOL), biodiesel etílico de soja (BETSO), biodiesel metílico de palma (BMETPAL), biodiesel metílico de girassol (BMETGIR), biodiesel metílico de soja (BMETSO); óleo vegetal de oliva (OOL), óleo de soja (OSO) e óleo de girassol (OGIR).

5.4 Construção de Modelo Univariado para Determinação do Teor de Biodiesel Metílico de Soja em Diesel AS500.

Na construção de um modelo univariado é necessário correlacionar duas grandezas, uma de entrada e outra grandeza de saída ⁷⁶. Neste trabalho, a grandeza de

entrada é representada pelo teor de Bx, já a grandeza de saída é representada pelas curvas de relaxação transversal. Assim teores de Bx foram correlacionados com valores de tempo de relaxação e amplitude de sinal, extraídos das curvas de T_2 .

Deste modo, curvas de T_2 foram obtidas para misturas de amostras preparadas em triplicatas, de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500 nas concentrações de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80 e 100 % (v/v). A partir das curvas de T_2 foi determinado a amplitude das curvas e o seu respectivo tempo de relaxação transversal, por meio da equação 13.

$$y(t) = A o. e^{-(t/T_2)} + o \quad (13)$$

Onde: A é a amplitude do sinal da curva de relaxação transversal, T_2 é o tempo de relaxação transversal para determinado analito e o é *offset* da exponencial.

Para amostras que contém mais de um componente, como é o caso das misturas Diesel/biodiesel e que apresentam mais de um composto, ajustes multiexponenciais (equação 14) devem ser aplicados, a fim de se obter o maior numero de tempos de relaxação distintos.

$$y(t) = \sum_{k=1}^n A(T_{2k}). e^{-(\frac{t}{T_{2k}})} + o \quad (1)$$

Ajustes monoexponenciais ajustam a curva de T_2 para um único componente, enquanto que um ajuste bi e triexponencial busca ajustar a curva de decaimento transversal para dois e três componentes, respectivamente. Assim, foram aplicados às curvas de decaimento de T_2 ajustes mono, bi e triexponencial, para avaliar qual conjunto de dados seria mais adequado para desenvolver os modelos univariados. A figura 29 (A) ilustra as curvas de decaimento para as amostras B0, B8, B40, B100 e os resíduos da aplicação dos ajustes mono (Figura 29 (B)), bi (Figura 29 (C)) e triexponencial (Figura 29 (D)).

Os resíduos correlacionam a diferença entre o sinal experimental e seu respectivo ajuste. Por meio da análise de resíduos é possível avaliar a eficiência do ajuste aplicado e observar possíveis anomalias, ou seja, observar amostras que não puderam ser explicadas pelo modelo proposto⁷⁶. Por meio da análise dos resíduos (Figura 29) foi possível observar que o ajuste monoexponencial apresenta o maior resíduo, enquanto que os ajustes bi e triexponencial apresentaram resíduos praticamente equivalentes para

todas as amostras. Esta observação demonstra que as curvas de decaimento de T_2 , na verdade, são compostas por mais de um componente.

Em relação ao coeficiente de determinação (R^2) dos três ajustes aplicados, valores próximos ao valor ideal de 1 foram observados, mesmo para o ajuste monoexponencial (Tabela 3). Embora o ajuste triexponencial tenha apresentado ótimos valores de coeficiente de determinação, ao analisar os valores de tempo de relaxação verifica-se valores duplicados (Tabela 3). Estas observações sugerem que o ajuste biexponencial será mais adequado para desenvolver modelos de calibração univariado.

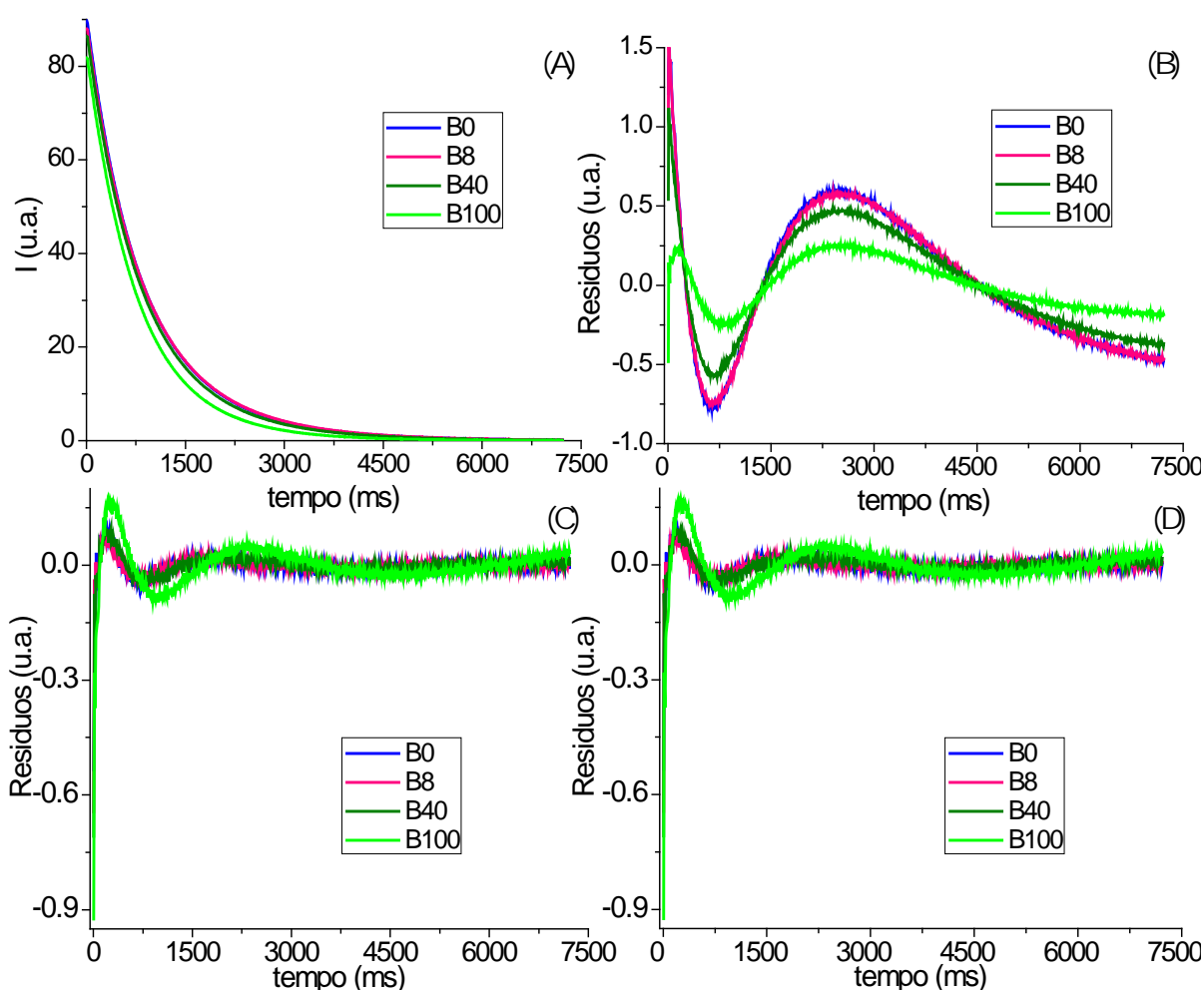


Figura 29. (A) Curva de decaimento de T_2 das misturas de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 (B0, B8, B40 e B100); (B) resíduos do ajuste monoexponencial; (C) resíduos do ajuste biexponencial; (D) resíduos do ajuste triexponencial.

Com base na análise de resíduos (Figura 29), coeficiente de correlação (R^2), valores de decaimento (T_2) e valores de amplitude de sinal (A) (Tabela 3), o ajuste

biexponencial apresentou o melhor comportamento para ajustar as curvas de T_2 , obtidas pelas medidas de RMN de H^1 de baixo campo.

Desta forma, os dois tempos de decaimento transversal, T_2 (1) e T_2 (2), e as correspondentes amplitudes de sinal A1 e A2, obtidas pela aplicação do ajuste biexponencial, foram escolhidos para a construção dos modelos de calibração univariados. Assim, os tempos de decaimento, bem como as amplitudes, do ajuste biexponencial, foram correlacionadas com os valores de concentração de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 (Figura 29).

Nenhuma correlação linear foi observada utilizando os dados de T_2 . No entanto, uma correlação não linear foi sugerida, visualmente, para a correlação do teor de biodiesel metílico de soja nas misturas Bx versus amplitude dos sinais dos tempos de relaxação transversal (Figura 30).

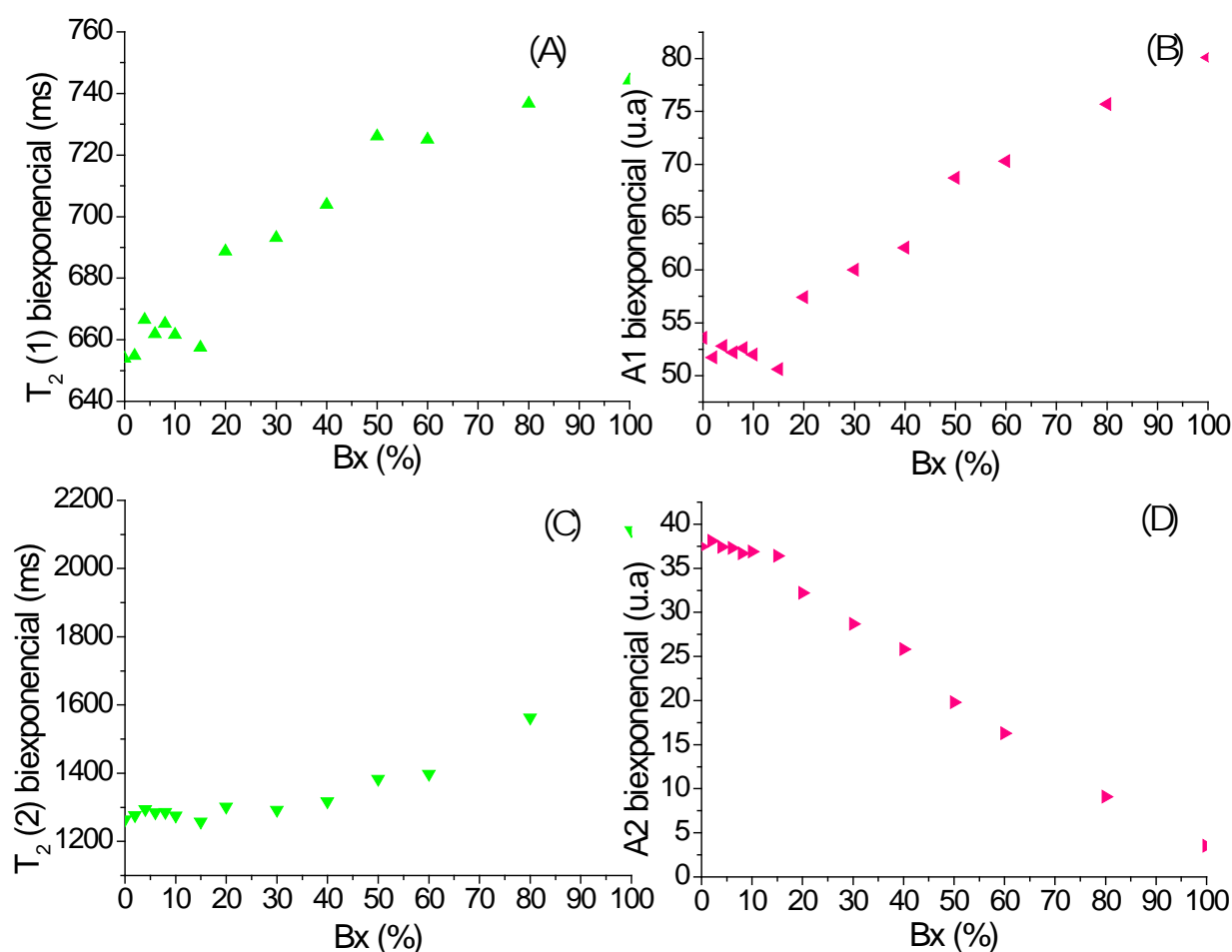


Figura 30. Correlação das concentrações das misturas Bx, de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, com os dados de T_2 (1) (A), A1 (B), T_2 (2) (C) e A2 (D) dos ajustes biexponenciais.

Tabela 3. Ajustes mono, bi e triexponencial dos tempos de relaxação transversal de amostras Bx, de biodiesel metílico de soja e Diesel mineral AS500.

AJUSTE MONOEXPONENCIAL				
Bx	[Bx]	T ₂ (1)	A1	R ²
	(v/v %)	ms	%	
B0	0,00	880.7	88,6	0,9995
B2	2,62	893.4	87,3	0,9995
B4	4,10	900.9	87,8	0,9995
B6	6,06	896.2	87,2	0,9995
B8	8,17	895.4	86,9	0,9995
B10	10,0	891.9	86,5	0,9995
B15	14,9	885.3	84,8	0,9995
B20	20,1	884.5	87,5	0,9996
B30	30,0	864.1	86,8	0,9997
B40	39,3	860.7	86,1	0,9997
B50	50,1	849.8	86,9	0,9998
B60	60,3	829.8	85,2	0,9998
B80	79,7	803.6	83,7	0,9995
B100	100	777.5	82,8	0,9991

AJUSTE BIEXPONENCIAL						
Bx	[Bx]	T ₂ (1)	A1	T ₂ (2)	A2	R ²
	(v/v %)	ms	%	ms	%	
B0	0,00	653,9	53,6	1263,6	37,4	1
B2	2,62	654,8	51,7	1276,5	38,1	1
B4	4,10	666,5	52,8	1294,7	37,4	1
B6	6,06	661,9	52,2	1284,6	37,3	1
B8	8,17	665,2	52,6	1286,1	36,7	1
B10	10,0	661,6	52,0	1275,6	36,9	1

AJUSTE BIEXPONENCIAL						
Bx	[Bx] (v/v %)	T ₂ (1) ms	A1 %	T ₂ (2) ms	A2 %	R ²
B15	14,9	657,5	50,6	1257,8	36,4	1
B20	20,1	688,7	57,4	1302,1	32,2	1
B30	30,0	693,1	60,0	1292,2	28,7	1
B40	39,3	703,9	62,1	1317,6	25,8	1
B50	50,1	726,1	68,7	1382,8	19,8	1
B60	60,3	725,1	70,3	1397,3	16,3	1
B80	79,7	736,7	75,7	1562,5	9,1	1
B100	100	744,3	80,1	2112,0	3,5	1

AJUSTE TRIEXPONENCIAL								
Bx	[Bx] (v/v %)	T ₂ (1) ms	A1 %	T ₂ (2) ms	A2 %	T ₂ (3) ms	A3 %	R ²
B0	0,00	653,9	26,8	653,9	26,8	1263,6	37,4	1
B2	2,62	654,8	51,7	1276,5	15,5	1276,5	22,6	1
B4	4,10	666,5	52,8	1294,7	17,1	1294,8	20,3	1
B6	6,06	661,9	52,2	1284,6	18,7	1284,7	18,7	1
B8	8,17	655,2	16,0	665,2	36,6	1286,1	36,7	1
B10	10,0	661,6	52,0	1275,5	18,4	1275,6	18,4	1
B15	14,9	657,5	25,3	657,5	25,4	1257,8	36,4	1
B20	20,1	688,7	24,8	688,7	32,7	1302,1	32,2	1
B30	30,0	693,1	17,9	693,1	42,2	1292,3	28,7	1
B40	39,3	703,9	20,4	703,9	41,8	1317,6	25,8	1
B50	50,1	726,1	34,1	726,2	34,6	1382,0	19,8	1
B60	60,3	725,1	38,5	725,1	31,8	1397,3	16,3	1
B80	79,7	736,7	37,9	736,7	37,9	1562,5	9,1	0,9999
B100	100	744,3	40,0	744,3	40,0	2111,9	3,5	0,9999

Para avaliar o ajuste biexponencial o conjunto de amostras de misturas de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500 preparadas em triplicatas foram submetidos ao ajuste biexponencial (Tabela 3). Assim, os valores de amplitude A1 e A2, obtidos por meio do ajuste biexponencial das curvas de relaxação transversal, foram utilizados para correlacionar com o teor Bx das amostras da tabela 3.

Por meio da figura 31 é possível observar uma correlação entre os valores de Bx e valores de amplitudes de sinais de T_2 . Correlações lineares e polinomiais foram testadas nas curvas analíticas. A melhor correlação foi utilizando o ajuste polinomial quadrático. O coeficiente de determinação (R^2) obtido da curva Bx versus A1 foi de 0,9912, chamado de modelo 1, e de Bx versus A2 foi de 0,9946, chamado de modelo 2, demonstrando que existe uma alta correlação entre o teor de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 e as amplitudes de $T_2(1)$ e $T_2(2)$.

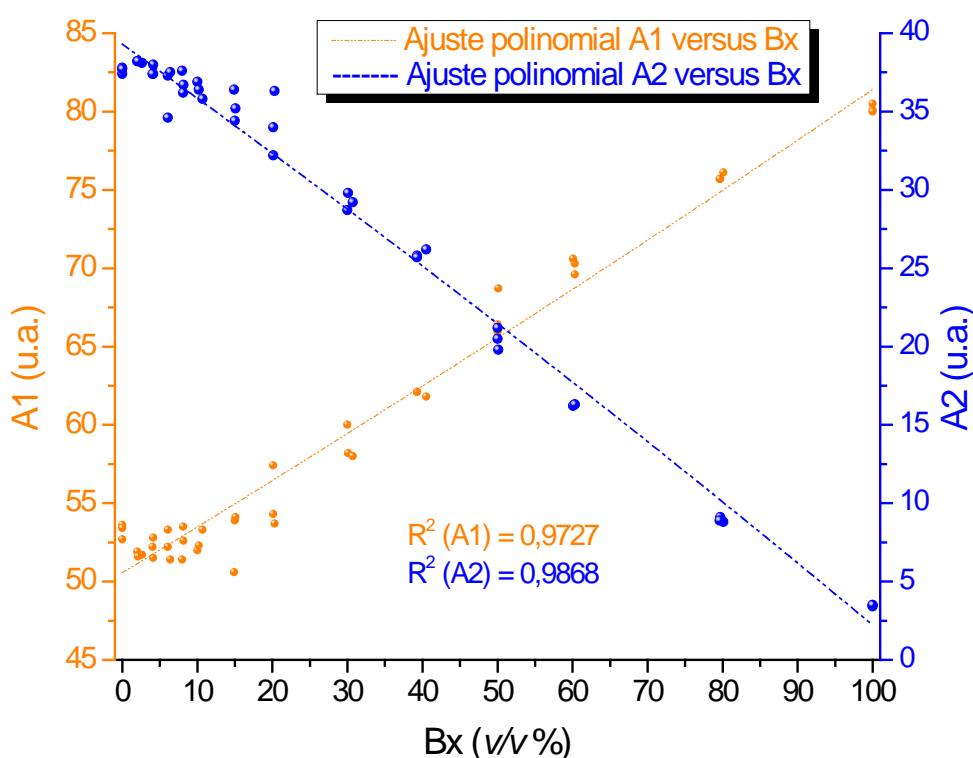


Figura 31. Curvas analíticas do modelo 1 – A1 versus teores de Bx - e Curva analítica do Modelo 2 – A2 versus teores e Bx, para os modelos de calibração univariados.

Pode ser observado também que quando uma amplitude diminui a outra aumenta, sugerindo que as mesmas podem estar relacionadas com os teores de Diesel e biodiesel. Sendo assim, a amplitude A1 estaria correlacionada com o teor de biodiesel, enquanto que a amplitude A2 estaria correlacionada com o teor de Diesel nas amostras (Figura 31).

As equações que descrevem os modelos 1 e 2, utilizando as amplitudes A1 e A2, respectivamente, estão descritas abaixo:

$$y = 50,56 + (0,291)x + (1,768E^{-4})x^2 \quad (17)$$

$$y = 39,30 + (-0,343)x + (-2,813E^{-4})x^2 \quad (16)$$

Os gráficos da distribuição de resíduos (Figura 32) indicam que os resíduos estão distribuídos aleatoriamente, não sendo possível verificar nenhuma anormalidade, ou seja, nenhuma distribuição sistemática que indique o desajuste do modelo. Além disso, o alto coeficiente de correlação (R^2) obtido para os dois modelos cúbicos indicam uma boa modelagem polinomial, porém tais modelos precisam ser testados por outros métodos, para avaliação da eficiência de predição de novas amostras.

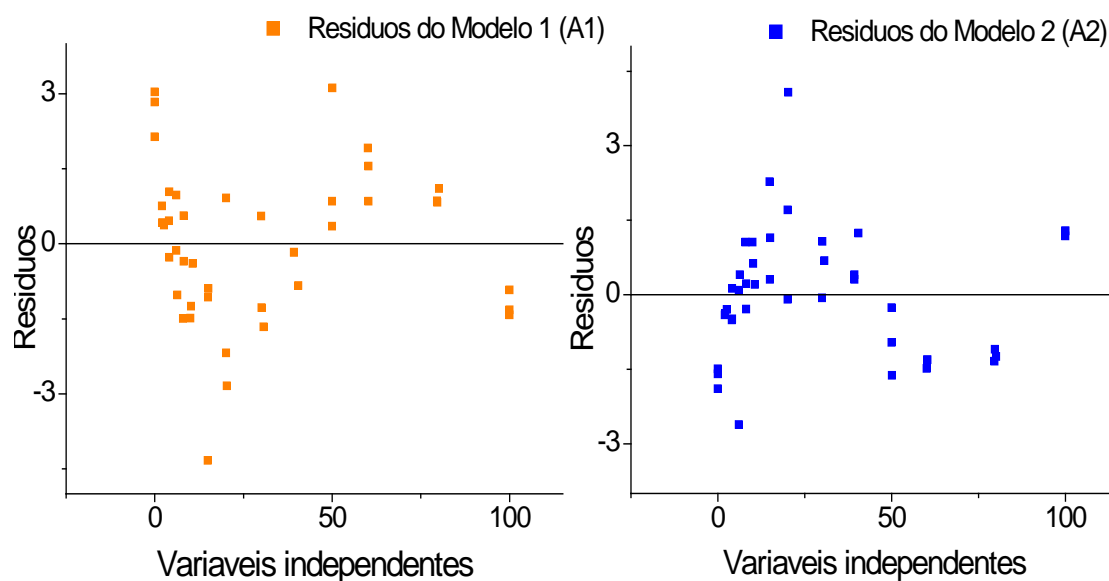


Figura 32. Resíduos do Modelo 1 e Resíduos do Modelo 2, para os modelos de calibração univariados.

Desta forma, para avaliar a eficiência dos modelos foi realizada uma análise de variância dos dados (ANOVA) (Tabelas 5 e 6). A ANOVA é o método mais usado para se avaliar numericamente a qualidade do ajuste de um modelo, por meio da decomposição algébrica dos desvios das respostas observadas em relação à resposta média global ⁷⁶.

Tabela 4. Tabela de análise de variância do modelo 1, utilizando a amplitude A1.

		Graus de liberdade	Soma quadrática	Média quadrática	Valor F
Modelo 1	Regressão	2	3643,77	1821,88	730,73
	Resíduos	39	97,24	2,49	
	Total	41	3741,00		
	% de variação explicada: 97,40				

Tabela 5. Tabela de análise de variância do modelo 2, utilizando a amplitude A2.

		Graus de liberdade	Soma quadrática	Média quadrática	Valor F
Modelo 2	Regressão	2	5242,60	2621,30	1522,95
	Resíduos	39	67,13	1,72	
	Total	41	5309,72		
	% de variação explicada: 98,74				

O valor da soma quadrática da regressão para ambos os modelos ficou muito próximo da soma quadrática total, sugerindo que a regressão quadrática é um modelo univariado aplicável para a determinação do teor de Bx. A soma quadrática dos resíduos representa a parte da variação das respostas em torno da média que o modelo não consegue reproduzir, e em ambos os casos a soma quadrática dos resíduos foi bastante baixa em relação à soma quadrática total. Os valores das médias quadráticas são medidas aproximadas do erro médio (quadrático) frente aos modelos construídos. No caso do modelo 1 o erro quadrático médio ficou em 2,49 e no modelo 2 em 1,72, valores bastante baixos.

Para avaliar a regressão aplicada aos modelos 1 e 2 quanto a utilidade de capacidade preditiva foi aplicado um teste F, da razão entre a média quadrática da regressão pela razão da média quadrática dos resíduos (Barros Neto, 2001). O valor da razão das médias quadráticas da regressão por resíduos para o modelo 1 foi 730,73 e para o modelo 2 foi 1522,95, enquanto que $F_{3,40}$ tabelado é igual a 3,23, no nível de 95 % de confiança (Tabela 4 e 5). A razão da média quadrática bastante superior ao valor de $F_{2,40}$ tabelado indica que os modelos quadráticos apresentaram uma regressão bastante significativa.

Tabela 6. Dados dos ajustes biexponencial para as amostras do conjunto de calibração das misturas Bx, de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, utilizadas no desenvolvimento do modelo de calibração univariada.

Misturas Bx % (v/v)		AJUSTE BIEXPONENCIAL				R ² -
		T ₂ (1) ms	A1 %	T ₂ (2) ms	A2 %	
AMOSTRAS DO CONJUNTO DE CALIBRAÇÃO						
B0-a	0,00	653,9	53,6	1263,6	37,4	1
B2-a	2,62	654,8	51,7	1276,5	38,1	1
B4-a	4,10	666,5	52,8	1294,7	37,4	1
B6-a	6,06	661,9	52,2	1284,6	37,3	1
B8-a	8,17	665,2	52,6	1286,1	36,7	1
B10-a	10,0	661,6	52,0	1275,6	36,9	1
B15-a	14,9	657,5	50,6	1257,8	36,4	1
B20-a	20,1	688,7	57,4	1302,1	32,2	1
B30-a	30,0	693,1	60,0	1292,2	28,7	1
B40-a	39,3	703,9	62,1	1317,6	25,8	1
B50-a	50,1	726,1	68,7	1382,8	19,8	1
B60-a	60,3	725,1	70,3	1397,3	16,3	1
B80-a	79,7	736,7	75,7	1562,5	9,1	1
B100-a	100	744,3	80,1	2112,0	3,5	1
B0-b	0,00	639,8	53,4	1242,7	37,8	1
B2-b	2,00	660,0	51,9	1289,9	38,2	1
B4-b	4,14	657,0	51,5	1280,8	38,0	1
B6-b	6,38	656,5	51,4	1270,6	37,5	1
B8-b	8,13	662,5	53,5	1272,2	36,2	1
B10-b	10,2	650,5	52,3	1245,1	36,4	1
B15-b	15,0	658,7	53,9	1243,9	34,4	1

AJUSTE BIEXPONENCIAL						
Misturas Bx % (v/v)	T ₂ (1) ms	A1 %	T ₂ (2) ms	A2 %	R ² -	
AMOSTRAS DO CONJUNTO DE CALIBRAÇÃO						
B20-b	20,1	656,6	54,3	1240,8	34,0	1
B30-b	30,1	692,5	58,2	1298,0	29,8	1
B40-b	40,5	701,6	61,8	1310,7	26,2	1
B50-b	50,0	701,7	65,9	1306,9	21,2	1
B60-b	60,1	732,3	70,6	1412,9	16,2	1
B80-b	80,1	737,9	76,1	1577,7	8,8	0,9999
B100-b	100	740,9	80,5	2131,5	3,4	0,9999
B0-c	0,00	650,9	52,7	1259,6	37,7	1
B2-c	2,10	668,0	51,6	1305,6	38,2	1
B4-c	4,03	661,2	52,2	1279,6	37,4	1
B6-c	6,05	661,2	53,3	1249,9	34,6	1
B8-c	7,99	645,9	51,4	1250,7	37,6	1
B10-c	10,7	669,8	53,3	1282,9	35,8	1
B15-c	15,1	674,1	54,1	1288,6	35,2	1
B20-c	20,3	667,8	53,7	1290,4	36,3	1
B30-c	30,7	685,0	58,0	1266,2	29,2	1
B40-c	39,3	683,0	62,1	1266,8	25,7	1
B50-c	50,0	711,3	66,4	1331,6	20,5	1
B60-c	60,3	720,4	69,6	1375,2	16,3	1
B80-c	79,6	747,2	75,7	1595,6	8,9	0,9999
B100-c	100	747,9	80,0	2141,0	3,5	0,9999

O modelo de calibração univariado, para determinação do teor de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500, também foi avaliado quanto à eficiência de predição de novas amostras. Assim, um conjunto de amostras preparadas em duplicatas para validação nas seguintes concentrações: B0, B2, B5, B7, B15, B25, B50 e B70, foram testadas frente à capacidade preditiva do modelo 1 e modelo 2 desenvolvidos. As amplitudes A1 e A2, das amostras utilizadas para a validação dos modelos univariados, foram obtidas por meio do ajuste biexponencial da curva de decaimento T_2 , utilizando a equação 14. Após a aquisição dos valores de amplitude A1 e A2, por meio da equação 14, os mesmos foram substituídos nas equações 15 e 16, obtidas pela regressão quadrática dos modelos 1 e 2, e assim obtidos os valores de teores de Bx do conjunto de amostras utilizadas na fase de validação dos métodos propostos (Tabela 7).

Tabela 7. Previsão da capacidade preditiva do modelo univariado, para determinação do teor de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, obtido pela interpolação do modelo 1 (A1) e modelo 2 (A2)..

Amostras		A1	[Bx] predito	Erro	A2	[Bx] predito	Erro
[Bx] % (v/v)		%	% (v/v)	relativo	%	% (v/v)	relativo
Conjunto de validação				%			%
AJUSTE BIEXPONENCIAL							
B3-a	3,07	51,95	4,75	54,7	37,91	4,02	15,4
B5-a	5,01	54,55	13,6	171,5	36,52	8,09	40,5
B9-a	9,00	55,56	17,0	88,9	35,37	11,4	32,9
B12-a	12,0	52,76	7,51	37,4	35,89	9,84	31,0
B25-a	25,6	57,15	22,4	12,5	31,38	23,0	2,70
B45-a	44,9	64,97	48,1	7,10	23,06	45,8	4,81
B70-a	70,0	71,85	70,2	0,30	9,48	81,7	16,4
B3-b	3,03	50,58	0,02	99,3	38,49	2,35	22,4
B5-b	5,00	51,77	4,14	17,2	37,62	4,99	20,5
B9-b	9,04	56,16	19,1	111,3	34,56	13,6	28,8
B12-b	12,0	52,80	7,74	35,5	36,06	9,40	21,4
B25-b	25,3	55,19	15,7	37,9	32,64	19,3	22,9
B45-b	45,0	64,57	46,9	4,20	22,75	46,7	3,62
B70-b	69,7	74,54	78,7	12,9	11,86	75,5	4,07
Soma				636,1	284,4		
Erro relativo médio				45,4	18,0		

Os valores de predição obtidos para o teor de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 (Tabela 7) aplicando a interpolação nas curvas analíticas, figura 29, apresentaram erros relativos elevados, principalmente para baixas concentrações de biodiesel (B3, B5, B9 e B12), tanto para o modelo 1 quanto para o modelo 2, já para teores iguais e acima de 25 % (Tabela 7) recuperações de cerca de 20% foram alcançadas. Além disso, o modelo 2 que correlacionou valores de amplitude do segundo componente (A2) versus teores de Bx forneceu erros relativos menores quando comparado ao modelo 1.

Para comparar o comportamento da curva analítica utilizando os dados de amplitude de T_2 versus teores de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 duas fontes distintas de biodiesel foram utilizadas para preparar as misturas Bx. Após as duas curvas analíticas foram comparadas em função de seu ajuste polinomial (Figura 33).

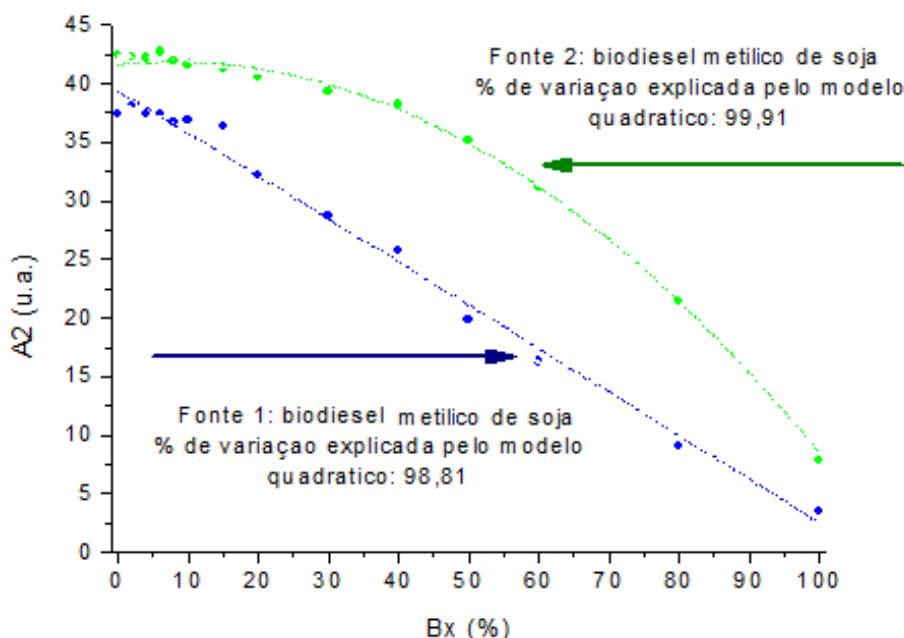


Figura 33. Curvas analíticas de misturas Bx de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 utilizando fontes distintas de biodiesel.

Embora o ajuste quadrático tenha sido adequado para as duas curvas analíticas (Figura 31) foi possível observar os diferentes perfis apresentados pelas curvas desenvolvidas a partir de fontes diversas de biodiesel metílico de soja.

5.5 Determinação do teor de biodiesel em Diesel através da calibração multivariada.

Os modelos univariados desenvolvidos para determinar o teor das misturas Bx, utilizando a amplitude do sinal da curva de relaxação transversal versus o teor de Bx, não

apresentaram desempenho satisfatório para prever o teor de novas amostras, já que apresentou erros relativos elevados, principalmente para a faixa de concentração de B3 a B12, além disso, sua reprodutibilidade apresentou desvios elevados (Tabela 7) .

Assim, para explorar todas as informações das curvas de decaimento de T_2 , não exploradas pelo modelo univariado, foi aplicado à regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) com o intuito de aperfeiçoar os resultados obtidos a partir da técnica de RMN em baixo campo.

5.5.1 PLS da mistura biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, utilizando medidas obtidas pela RMN em baixo campo.

As curvas de T_2 , das amostras utilizadas para construção do modelo de calibração multivariado, mostraram que para altas concentrações de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 as curvas de decaimento possuem perfis distintos. Entretanto, para baixas concentrações visualmente não é possível fazer a diferenciação entre amostras (Figura 18).

Desta forma, a determinação do teor de biodiesel metílico de soja no Diesel mineral AS500 foi realizada pela análise multivariada, através da regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) aplicada sobre as curvas de decaimento de T_2 , a qual foi escolhida por ser um dos algoritmos de calibração multivariado mais bem estabelecido e um dos mais comumente utilizados⁶⁵. A PLS foi construída a partir de quatorze valores de concentração de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500, com variação de concentração de 2% de B0 a B10, visando contemplar a regulamentação brasileira atual que exige a adição de 5% de biodiesel no petrodiesel, B15, B20 a B60 com variação de concentração de 10%, B80 e B100 (Tabela 8). Para a validação do modelo sete novas amostras preparadas em duplicatas (B0, B3, B5, B9, B25, B45 e B70) foram empregadas (Tabela 8).

Para avaliar a qualidade da calibração foi utilizado o coeficiente de determinação R^2 , erros de validação cruzada (RMSECV) e a presença de amostras anômalas ou *outliers*. A definição do melhor número de variáveis latentes (VL's) a ser utilizado foi acompanhada pelos erros de previsão, denominado PRESS. O PRESS é

Tabela 8. Composição das misturas Bx, de biodiesel metílico de soja e Diesel AS50, utilizadas para a etapa de calibração e validação dos modelos multivariados desenvolvidos a partir das curvas de T₂.

Misturas Bx	Sigla	[Bx] v/v (%)	Misturas Bx	Sigla	[Bx] v/v (%)	Misturas Bx	Sigla	[Bx] v/v (%)	Misturas Bx	Sigla	[Bx] v/v (%)
Conjunto de amostras para calibração						Conjunto de amostras para validação					
1	B0-a	0,00	15	B0-b	0,00	29	B0-c	0,00	43	B3-a	3,07
2	B2-a	2,62	16	B2-b	2,00	30	B2-c	2,10	44	B5-a	5,01
3	B4-a	4,10	17	B4-b	4,14	31	B4-c	4,03	45	B9-a	9,00
4	B6-a	6,06	18	B6-b	6,38	32	B6-c	6,05	46	B12-a	12,0
5	B8-a	8,17	19	B8-b	8,13	33	B8-c	7,99	47	B25-a	25,6
6	B10-a	10,0	20	B10-b	10,2	34	B10-c	10,7	48	B45-a	44,9
7	B15-a	14,9	21	B15-b	15,0	35	B15-c	15,1	49	B70-a	70,0
8	B20-a	20,1	22	B20-b	20,1	36	B20-c	20,3	50	B3-b	3,03
9	B30-a	30,0	23	B30-b	30,1	37	B30-c	30,7	51	B5-b	5,00
10	B40-a	39,3	24	B40-b	40,5	38	B40-c	39,3	52	B9-b	9,04
11	B50-a	50,1	25	B50-b	50,0	39	B50-c	50,0	53	B12-b	12,0
12	B60-a	60,3	26	B60-b	60,1	40	B60-c	60,3	54	B25-b	25,3
13	B80-a	79,7	27	B80-b	80,1	41	B80-c	79,6	55	B45-b	45,0
14	B100-a	100	28	B100-b	100	42	B100-c	100	56	B70-b	69,7

calculado em função da validação cruzada realizada. A validação cruzada é um método adotado na validação de modelos de calibração, para avaliar a eficiência de previsão do modelo desenvolvido.

Neste trabalho em função do conjunto de dados ser pequeno, o sistema de validação cruzado escolhido foi o chamado *leave-one-out*, no qual uma amostra é retirada do conjunto de calibração e utilizada como elemento de previsão. Este procedimento é repetido para todas as amostras utilizadas na calibração do modelo, uma de cada vez. Por meio do sistema de validação cruzada foi obtido o PRESS em função do número de variáveis latentes (Figura 34).

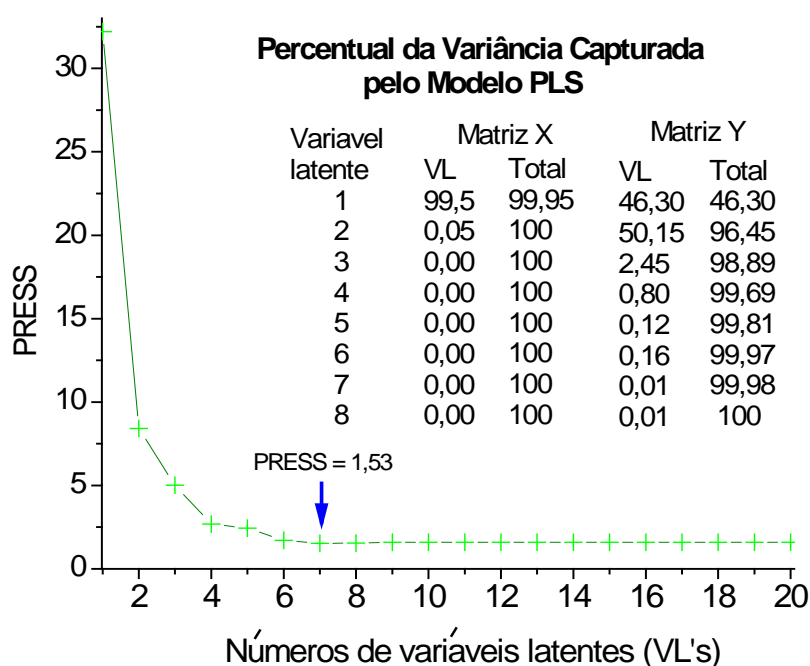


Figura 34. Gráfico do somatório dos PRESS versus VL's da PLS e valores da variância capturada pelas VL's, do modelo desenvolvido com as curvas de T2.

*Por meio da análise do gráfico de PRESS versus número de variáveis latentes (Figura 34) foi observado o menor erro de previsão do modelo (1,53) utilizando sete variáveis latentes. No entanto, a análise dos dados de percentuais, de variância explicada pelo modelo desenvolvido (Figura 34), informa que a partir de quatro variáveis latentes a contribuição das variáveis subsequentes na construção do modelo é bastante reduzida. O número de variáveis latentes utilizado durante a construção de um modelo multivariado expressa a complexidade do modelo desenvolvido. Um modelo para ser robusto deve ter uma capacidade de previsão adequada e ao mesmo tempo utilizar poucas variáveis latentes, portanto é necessário investigar a contribuição das VL's que expressem baixos valores de contribuição de variância.

Pela avaliação do gráfico de *leverage* versus resíduos estudentizados para o modelo com três variáveis latentes nenhuma amostra foi detectada como anômala (Figura 35). O valor máximo de *leverage* foi calculado pela razão $3 \cdot VLs/n$, obtendo-se o valor de 0,21 para três variáveis latentes e 0,57 para oito variáveis latentes, indicado na figura 35 pela linha vermelha tracejada. Já o valor dos resíduos estudentizados foi determinado com o teste t, para verificar se as amostras estão ou não dentro da distribuição com um nível de confiança de 95%, o valor tabelado a 95% de confiança é $\pm 2,5^{65}$. Novamente com o critério utilizado para os resíduos estudentizados nenhuma amostra foi considerada anômala.

Ainda analisando o gráfico de *leverage* versus resíduos estudentizados (Figura 35) verifica-se que as amostras 14, 15, 28 e 42 possuem os mais altos valores de *leverage*. Valores altos de *leverage* indicam que as curvas de T_2 , que correspondem as amostras 14, 15, 28 e 42, estão tendo maior influência no modelo desenvolvido do que aquelas amostras com menores medidas de *leverage*. As amostras 14, 28 e 42 são compostas somente de biodiesel metílico de soja, já a amostra 15 é composta somente de Diesel AS500 (Tabela 8). Assim é possível explicar a necessidade de até oito variáveis latentes para explicar 100% da variância dos dados do modelo desenvolvido. As amostras puras de biodiesel metílico de soja e Diesel são os extremos da curva analítica, e apresentam perfis de decaimento transversal bastante diverso das amostras constituídas das misturas Diesel/biodiesel, portanto irão ter uma influência maior durante o desenvolvimento do modelo multivariado.

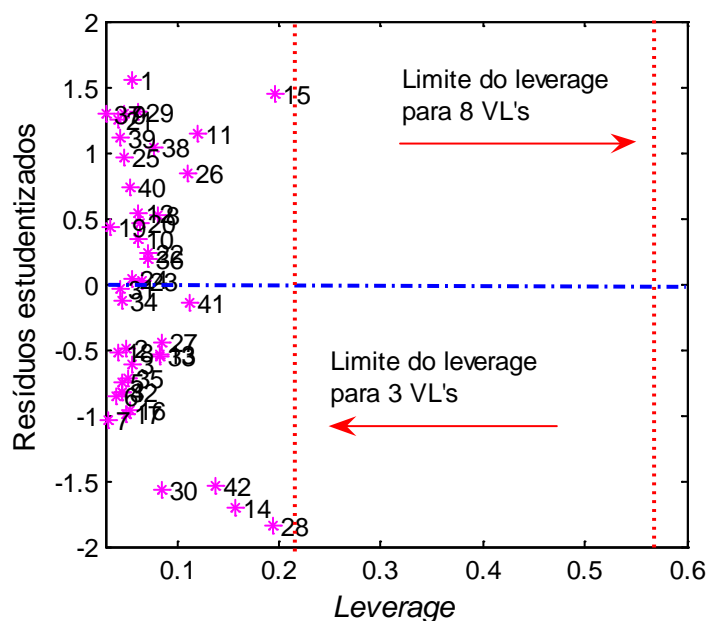


Figura 35. Gráfico de *leverage* versus resíduos estudentizados para a PLS com 3 VL's, construída com as curvas de decaimento de T_2 , sem aplicação de pré-processamento.

A possibilidade de desenvolver um modelo de previsão do teor de Bx com o intervalo de concentração de B0 a B100 é um diferencial desejado, já que o método padrão, por infravermelho médio, restringe a faixa de concentração de B0 a B30 dividida em duas curvas analíticas distintas. Dessa forma, os modelos foram desenvolvidos com o intuito de construir uma única curva analítica, a qual contempla misturas de B0 a B100.

Neste contexto, modelos de previsão de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 foram desenvolvidos com diferentes números de variáveis latentes e aplicando diversos pré-processamentos. O desempenho dos pré-processamentos foram avaliados, sendo o alisamento com uma janela espectral de três pontos e a normalização os que resultaram em melhores resultados, ou seja, menores erros de previsão foram observados (Tabela 9). O propósito do pré-processamento é modelar os dados de forma que o algoritmo da PLS possa estabelecer a melhor correlação entre as curvas T_2 e os dados de concentração do teor de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500. Nenhum ganho em potencial foi obtido com a adição do pré-processamento ao modelo, porém um pequeno decréscimo do RMSECV foi observado.

Tabela 9. Otimização dos modelos multivariados para quantificação do teor de biodiesel metílico de soja em óleo Diesel mineral AS500, obtidos com as curvas de T_2 .

Modelo PLS	Pré-processamento	VL's	Variância explicada na matrix X	Variância explicada na matrix Y	Erro de previsão (RMSECV)	R ²
PLS Biodiesel metílico de soja em Diesel AS500, das curvas de T_2.						
A1	não	3	100	98,89	5,02	0,986
A2	não	4	100	99,69	2,69	0,996
A3	não	5	100	99,81	2,45	0,997
A4	não	6	100	99,97	1,71	0,998
A5	não	7	100	99,98	1,53	0,999
A6	não	8	100	100	1,54	0,999
B1	Normalização e Alisamento	3	100	99,26	4,07	0,991
B2	Normalização e Alisamento	4	100	99,70	2,57	0,996
B3	Normalização e Alisamento	5	100	99,97	1,08	0,999
B4	Normalização e Alisamento	6	100	99,99	1,11	0,999
B5	Normalização e Alisamento	7	100	100	1,11	0,999

Embora os modelos desenvolvidos com três variáveis latentes (modelo A1 e B1 da tabela 9) sejam capazes de explicarem 98,89% da variância das curvas de T_2 , no caso do modelo sem aplicação de pré-processamento, e 99,26% utilizando normalização e alisamento, ao construir as curvas analíticas percebe-se uma melhora significativa na linearidade dos dados adicionando as variáveis latentes de número quatro e cinco. A quarta variável latente ajusta as amostras de B100 ao modelo, já a quinta variável latente ajusta as amostras de Diesel AS500, tal fato está associado ao perfil diferenciado das amostras puras de Diesel e biodiesel comparado ao perfil da curva de T_2 das misturas Diesel/biodiesel. Ainda pela tabela 9 observa-se o superajustamento do modelo ao adicionarmos variáveis latentes subsequentes a quinta, já que o erro de previsão observado é aumentado nos modelos com pré-processamento. Assim o modelo B3 (Tabela 9) levou ao menor erro de previsão sem causar um superajustamento do modelo desenvolvido.

A análise do gráfico de resíduos estudentizados versus concentração de Bx indica que as amostras apresentam uma distribuição normal (Figura 36), já que os resíduos estão distribuídos aleatoriamente em torno do valor zero. Assim, foi assumido que a função de regressão é adequada aos dados.

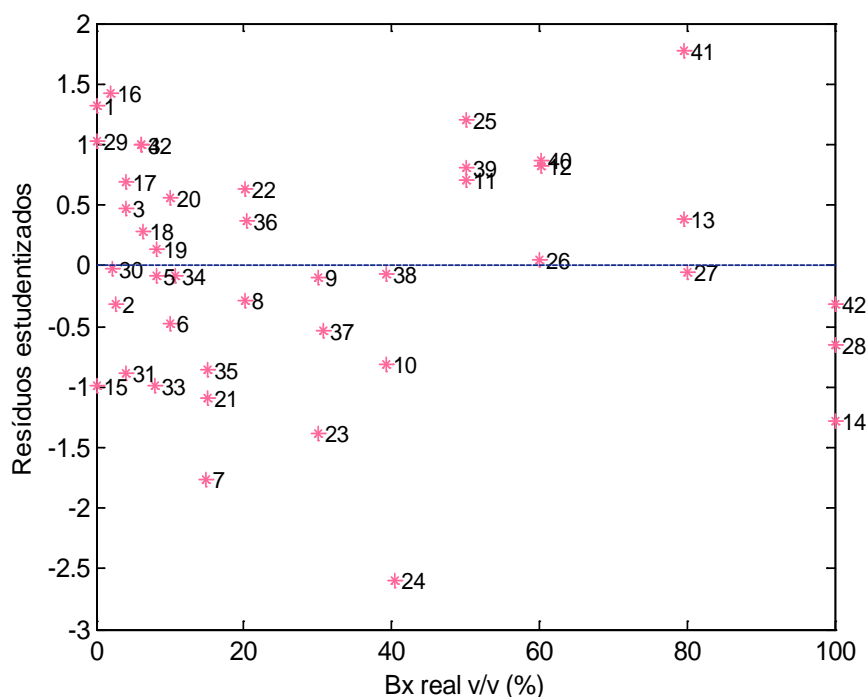


Figura 36. Gráficos dos resíduos estudentizados da PLS com cinco variáveis latentes versus concentração Bx.

Dentre os modelos desenvolvidos (Tabela 9) pôde-se verificar que a aplicação de pré-processamento forneceu os menores erros de previsão (RMSECV) e maior correlação linear (R^2). Os altos valores de R^2 observados (Tabela 9) indicam alta correlação entre as curvas de relaxação T_2 e os teores de biodiesel nas amostras. Entre os modelos desenvolvidos, o modelo com cinco variáveis latentes e utilizando o pré-processamento normalização pelo método de mínimo e máximo e utilizando o alisamento com janela espectral de três pontos, foi o que apresentou o menor erro de previsão (Tabela 9).

A capacidade de previsão do teor de biodiesel metílico de soja no Diesel AS500 do modelo B3 (Tabela 9) foi avaliada sobre novas amostras do conjunto de validação externa (amostras 43 a 56 da Tabela 8). Em termos percentuais o erro relativo médio apresentado pelo modelo B3 foi de 7,5 % (Tabela 10). Ainda foram observados maiores erros de previsão para baixos teores de Bx, este fato se deve às diferenças entre as amostras (Diesel e biodiesel) se tornarem menos evidentes, frente às medidas de T_2 .

A figura 37 ilustra a correlação dos teores de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500, para os valores reais e previstos para o modelo B3 utilizando as curvas de T_2 com cinco variáveis latentes e utilizando a normalização e alisamento como pré-processamento. Os valores reais de Bx versus valores preditos para o conjunto de calibração (Figura 37 (A)) e conjunto de validação cruzada (Figura 37 (B)) indicam a boa modelagem do modelo desenvolvido, já que apresentaram altos valores de coeficiente de determinação (R^2). Ainda a alta correlação entre os valores reais de Bx versus os valores preditos para as amostras utilizados na validação externa (Figura 37 (C)) indicam a boa capacidade preditiva do modelo desenvolvido.

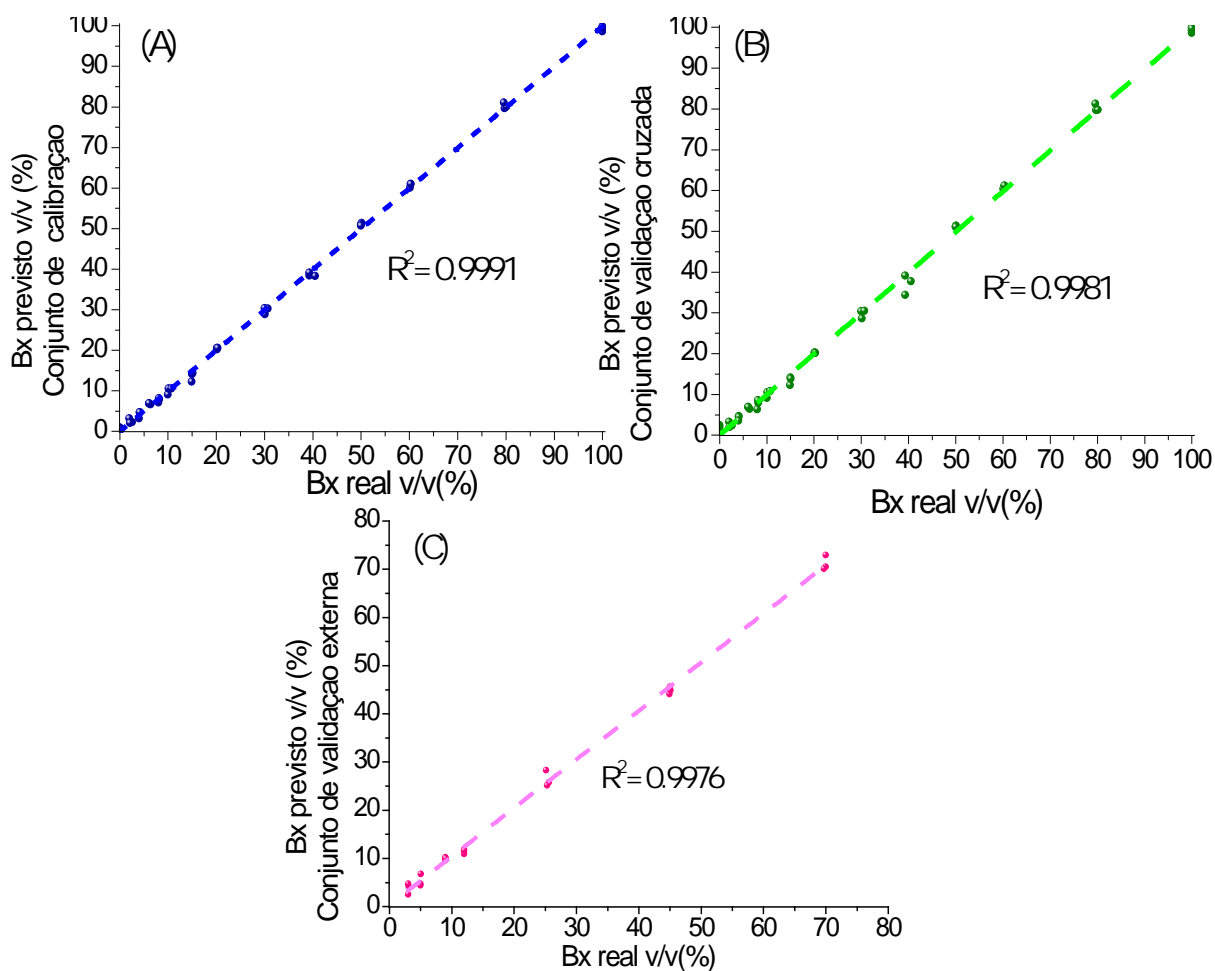


Figura 37. (A) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto de amostras de calibração. (B) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto amostras de validação cruzada. (C) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto de amostras de validação externa, para o modelo desenvolvido com cinco VL's e com as curvas de T_2 .

Tabela 10. Resultados da previsão do teor de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 do conjunto de amostras da validação externa, para a PLS construída a partir das curvas de T₂, com cinco variáveis latentes.

PLS Biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 - Modelo P1														
Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Média	Desvio padrão (s)	Erro relativo médio (%)
B3-a	3,07	4,25	1,18	38,44	1,18	B3-b	3,03	2,56	-0,47	15,5	0,47	3,41	1,20	27,0
B5-a	5,01	4,72	-0,29	5,79	0,29	B5-b	5,00	4,46	-0,54	10,8	0,54	4,59	0,18	8,30
B9-a	9,00	9,64	0,64	7,11	0,64	B9-b	9,04	9,99	0,95	10,5	0,95	9,82	0,25	8,80
B12-a	12,0	11,0	-1,00	8,33	1,00	B12-b	12,0	11,6	-0,40	3,30	0,40	11,30	0,42	5,80
B25-a	25,6	25,8	0,20	0,78	0,20	B25-b	25,3	25,2	-0,10	0,40	0,10	25,50	0,42	0,61
B45-a	44,9	44,1	-0,80	1,78	0,80	B45-b	45,0	45,6	0,60	1,33	0,60	44,85	1,06	1,62
B70-a	70,0	70,5	0,50	0,71	0,50	B70-b	69,7	70,1	0,40	0,57	0,40	70,30	0,28	0,63
												Soma	3,82	52,7
												Média	0,55	7,53

Devido à similaridade das curvas de T_2 , das misturas Bx de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, os espectros de relaxometria, obtidos a partir das curvas decaimento de T_2 , foram utilizados para desenvolver novos modelos de PLS, com o objetivo de avaliar seu comportamento para prever teores de Bx.

Desta forma o algoritmo contin foi aplicado às curvas de relaxação transversal para obtenção dos espectros de relaxometria. As amostras utilizadas para desenvolver a PLS com os espectros de relaxometria correspondem às mesmas amostras utilizadas para desenvolver a PLS com as curvas de T_2 . Logo, foram utilizadas as mesmas 42 amostras de misturas de biodiesel metílico de soja e Diesel AS500 (Tabela 8).

Para o modelo desenvolvido, sem aplicação de pré-processamento, com os espectros de relaxometria o menor erro de previsão foi constatado com nove variáveis latentes (Figura 38). Embora seja possível observar a pequena influência da variância na explicação do modelo desenvolvido a partir da quarta variável latente.

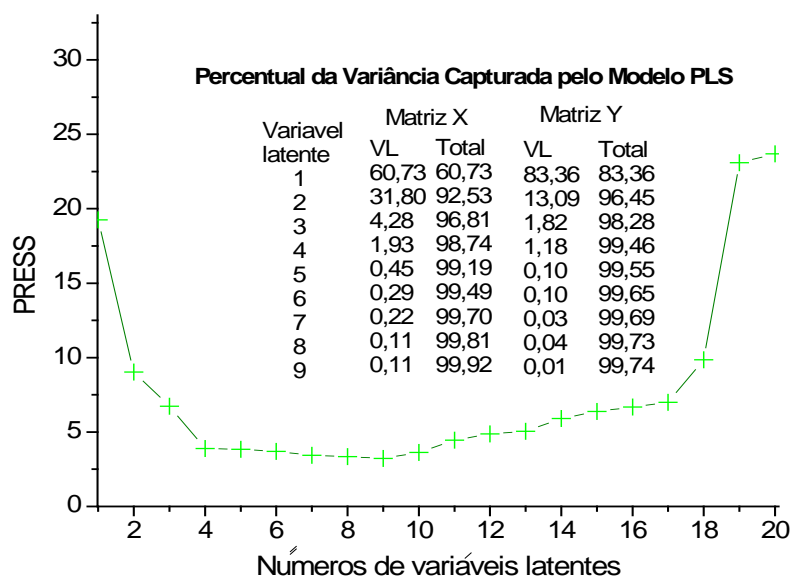


Figura 38. Gráfico do somatório dos erros de previsão (PRESS) versus número de variáveis latentes, para a PLS construída com os espectros de relaxometria, sem aplicação de pré-processamento.

Para a avaliação da presença de amostras anômalas foi plotado um gráfico de *leverage* versus resíduos estudentizados, para o modelo com cinco variáveis latentes (Figura 39). O valor máximo de *leverage* foi calculado pela razão $3 \cdot VLs/n$, obtendo-se o valor de 0,35. Já o valor dos resíduos estudentizados foi determinado com o teste t, para verificar se a amostra está ou não dentro da distribuição com um nível de confiança de 95%, o valor tabelado a 95% de confiança é $\pm 2,5$ ⁶⁵.

Amostras anômalas puderam ser identificadas na figura 39, a amostra 38 ultrapassou o limite determinado de 0,35 para o *leverage*. Já a amostra 36 embora esteja dentro da faixa de *leverage* apresentou um valor superior para o resíduo estudentizado. Embora as amostras 36 e 38 tenham apresentado comportamento aceitável no modelo desenvolvido com as curvas de T_2 , ambas foram retiradas do próximo modelo desenvolvido, para avaliar o grau de influência destas amostras. Assim, as amostras 36 e 38 foram retiradas do conjunto de dados e diversos pré-processamentos foram testados.

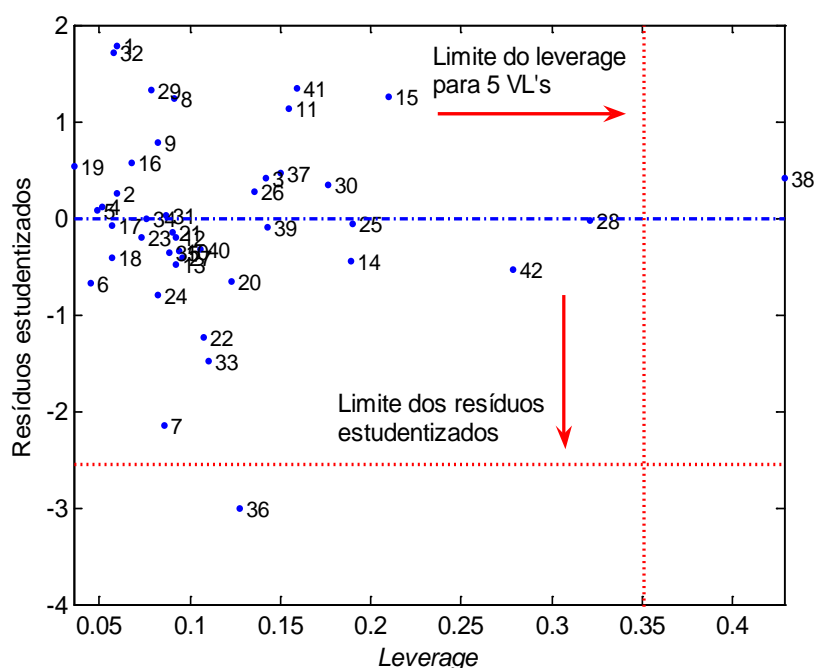


Figura 39. Gráfico de *leverage* versus resíduos estudentizados para a PLS com 5 VL's, construída com os espectros de relaxometria, sem pré-processamento.

A aplicação do alisamento, com janela de três pontos, nos espectros de relaxometria resultou em menores erros de previsão e melhores coeficientes de correlação. De fato, embora os dados que deram origem aos espectros de relaxometria das amostras 36 e 38, as curvas de T_2 , não tivessem apresentado comportamento anômalo, nos modelos desenvolvidos anteriormente, a retiradas de ambas as amostras resultaram em menores erros de previsão da PLS (Tabela 11).

Após a retirada das amostras anômalas, os modelos multivariados foram refeitos e avaliados quanto ao número de variáveis latentes significativas para explicar a variância dos dados e levar a robustez do modelo. Assim, foi verificado que quatro variáveis latentes são necessárias para explicar o modelo multivariado desenvolvido, sem que haja o comprometimento desses, devido aos problemas de superajustamentos (Tabela 11).

Tabela 11. Otimização dos modelos multivariados para quantificação do teor de biodiesel metílico de soja em óleo Diesel mineral AS500, obtidos com os espectros de relaxometria.

Modelo PLS	Pré-processamento	VL's	Variância explicada na matrix X	Variância explicada na matrix Y	Erro de previsão	R ²
PLS Biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 dos espectros de relaxometria.						
C1*	não	4	98,69	99,08	4,84	0,987
D1	não	3	97,57	98,35	6,33	0,979
D2	não	4	98,77	99,37	4,14	0,991
D3	não	5	99,27	99,45	4,21	0,991
E1	alisamento	3	98,99	97,97	4,91	0,987
E2	alisamento	4	99,73	98,98	3,54	0,993
E3	alisamento	5	99,87	99,07	3,54	0,993

* Com as amostras 36 e 38

Conforme a tabela 11 a quinta variável latente leva a erros de previsão superiores ou iguais a modelos desenvolvidos com quatro variáveis latentes. Assim, modelos com três, quatro e cinco variáveis latentes foram modelados com a aplicação de pré-processamentos. A aplicação do alisamento com janela de três pontos levou a obtenção de modelos com menores erros de previsão (Tabela 8).

O modelo PLS, desenvolvido com os espectros de relaxometria alisados, sem as duas amostras anômalas (Figura 40) e com quatro variáveis latentes, apresentou uma correlação entre os valores preditos e valores reais superior aos demais modelos desenvolvidos e apresentou o menor erro de previsão (modelo E2 da Tabela 11).

Para testar a capacidade de previsão, do modelo desenvolvido com os espectros de relaxometria, foi utilizado o mesmo conjunto de amostra para validação externa dos modelos desenvolvidos com as curvas de decaimento de T₂. O modelo E2 (Tabela 11) apresentou o erro relativo médio de 25%, erro bastante superior ao modelo B3 (Tabela 9) do modelo desenvolvido com as curvas de relaxação transversal. Ainda, se os valores preditos forem analisados, um a um, é possível observar o melhor desempenho na predição dos valores de Bx para concentrações igual ou superiores a B25 (Tabela 12). Isso concorda com as análises de PCA e HCA que demonstraram que os espectros de relaxometria contêm menos informações que as curvas de T₂.

Tabela 12. Previsão do teor de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500, do conjunto de amostras da validação externa, da PLS construída a partir dos espectros de relaxometria e quatro variáveis latentes.

PLS Biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 - Espectros de relaxometria														
Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Média	Desvio padrão (s)	Erro relativo médio (%)
B3-a	3,07	4,86	1,79	58,31	1,79	B3-b	3,03	4,61	1,58	52,1	1,58	4,74	0,18	55,2
B5-a	5,01	3,43	-1,58	31,54	1,58	B5-b	5,00	6,20	1,20	24,0	1,20	4,82	1,96	27,8
B9-a	9,00	10,5	1,51	16,67	1,50	B9-b	9,04	14,3	5,26	58,2	5,26	12,4	2,69	37,4
B12-a	12,0	8,91	-3,09	25,75	3,09	B12-b	12,0	7,50	-4,50	37,5	4,50	8,21	1,00	31,6
B25-a	25,6	29,0	3,40	13,28	3,40	B25-b	25,3	23,8	-1,50	5,90	1,51	26,4	3,68	9,60
B45-a	44,9	42,9	-2,00	4,45	2,00	B45-b	45,0	46,8	1,80	4,00	1,82	44,9	2,76	4,20
B70-a	70,0	65,9	-4,10	5,86	4,10	B70-b	69,7	77,6	7,90	11,33	7,90	71,8	8,27	8,60
												Soma	20,5	174,5
												Média	2,93	24,92

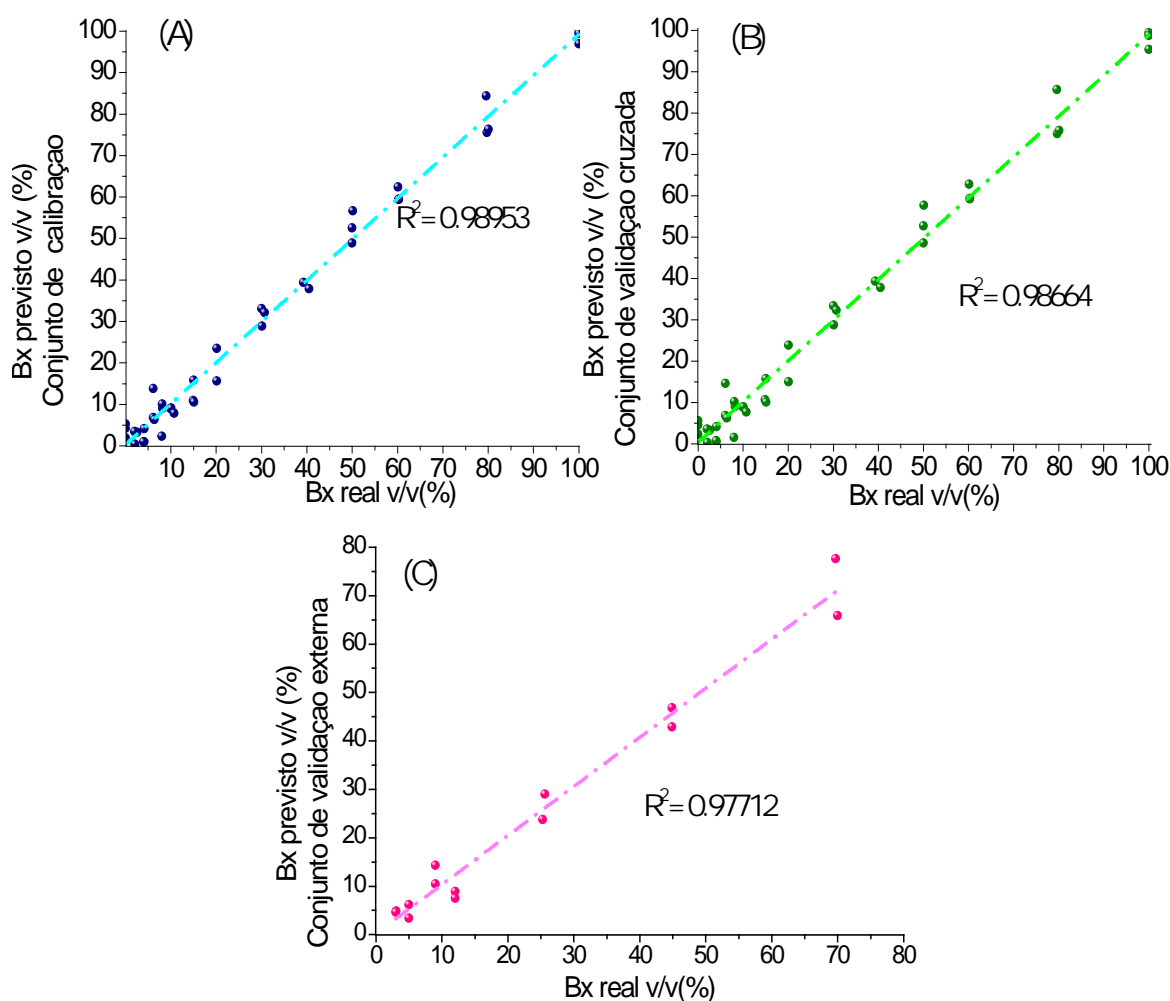


Figura 40. (A) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto de calibração. (B) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto de validação cruzada. (C) Gráfico de valores reais de Bx versus valores previstos para o conjunto de validação externa, para o modelo desenvolvido com quatro VL's e com os espectros de relaxometria.

O modelo PLS desenvolvido com os espectros de relaxometria além de apresentar erro relativo médio bastante superior ao modelos desenvolvidos com as curvas de T2, o modelo E2 apresentou desvio padrão (σ) médio cerca de cinco vezes maior ao modelo P1, ou seja, σ de 0,55 para o modelo P1 e σ 2,93 para o modelo E2 (Tabelas 10 e 12).

5.5.2 Modelos de PLS de misturas Bx de fontes diversas de biodiesel em Diesel.

Os modelos multivariados desenvolvidos para previsão do teor de Bx, utilizando biodiesel metílico de soja e Diesel AS500, apresentaram linearidade satisfatória quanto à correlação do teor de Bx e as curvas de relaxação transversal, já que apresentou

coeficiente de correlação acima de 0,999. Além disso, os valores preditos para o conjunto de amostras de validação externa apresentaram erros relativos médios relativamente baixos.

No entanto, as análises exploratórias por PCA e HCA indicaram a possibilidade de distinguir diferentes fontes de biodiesel por meio da curva de T_2 . A HCA desenvolvida a partir das curvas de T_2 segregou os biodieseis em dois grupos, um grupo composto por biodiesel etílico de soja, biodiesel metílico de oliva e biodiesel metílico de palma, e um segundo grupo foi formado por biodiesel metílico de soja e biodiesel metílico de girassol.

Deste modo, novos modelos multivariados utilizando a PLS foram construídos empregando distintas fontes de biodiesel (biodiesel etílico de soja, biodiesel metílico de palma e soja) e Diesel mineral AS50 e Diesel AS500, com a finalidade de detectar o comportamento dos modelos de calibração frente à variação da fonte dos analitos. Bem como verificar se os novos modelos apresentarão comportamento semelhante aos modelos desenvolvidos com biodiesel metílico de soja e Diesel AS500.

Dois tipos de Deseis foram empregados, o Diesel AS500 e o Diesel AS50, sendo a diferença marcante entre estas duas fontes de petrodiesel o teor de enxofre, no primeiro tem-se o máximo de 500 ppm de enxofre enquanto que no segundo 50 ppm de enxofre. A princípio, a variação do teor de enxofre frente a medidas de relaxação transversal do núcleo de ^1H não deveria ser fonte de variação entre fontes diversas de Deseis. Porém o processo de dessulfurização do Diesel adotado pela Petrobrás, o processo HDT, remove o enxofre do Diesel por meio de uma reação catalítica de hidrogenação, esta reação além de remover o enxofre quimicamente ligado promove a modificação na composição química do combustível, pois o produto da HDT resultante é mais pobre em compostos aromáticos e olefínicos (Figura 23).

As amostras de Deseis apresentaram dois domínios de tempo nos espectros de relaxometria, tanto para o óleo Diesel AS500 quanto para o AS50 (Figura 41 (A)). Embora apresentem perfis diferentes o Diesel AS500 e AS50 possuem tempos de relaxação nos mesmos intervalos de tempo para o primeiro e o segundo pico. A diferença entre os dois tipos de Deseis está na amplitude do sinal do segundo domínio de tempo. O primeiro domínio de tempo provavelmente está relacionado aos compostos saturados, compostos majoritários no petrodiesel, que apresentam maior mobilidade molecular quando comparado aos compostos aromáticos. Desta forma, o segundo domínio de tempo provavelmente está relacionado a compostos aromáticos, assim o Diesel AS50 mais pobre em compostos aromáticos e olefínicos apresentou amplitude de sinal menos intenso no segundo domínio de tempo.

No artigo quarto da Resolução ANP n° 65 de 2011 estão listados quais municípios brasileiros devem ser abastecidos pelo Diesel AS50 ou AS500, e ainda determina à introdução do Diesel AS10 a partir de janeiro de 2013. Segundo a mesma resolução o Diesel AS1800 deverá ser totalmente substituído pelo AS500 a partir de janeiro de 2014. Diante deste contexto os modelos de previsão deste trabalho foram desenvolvidos com o Diesel AS500 e AS50, de modo a contemplar os tipos de Deseis comercializados atualmente (2012 e 2013).

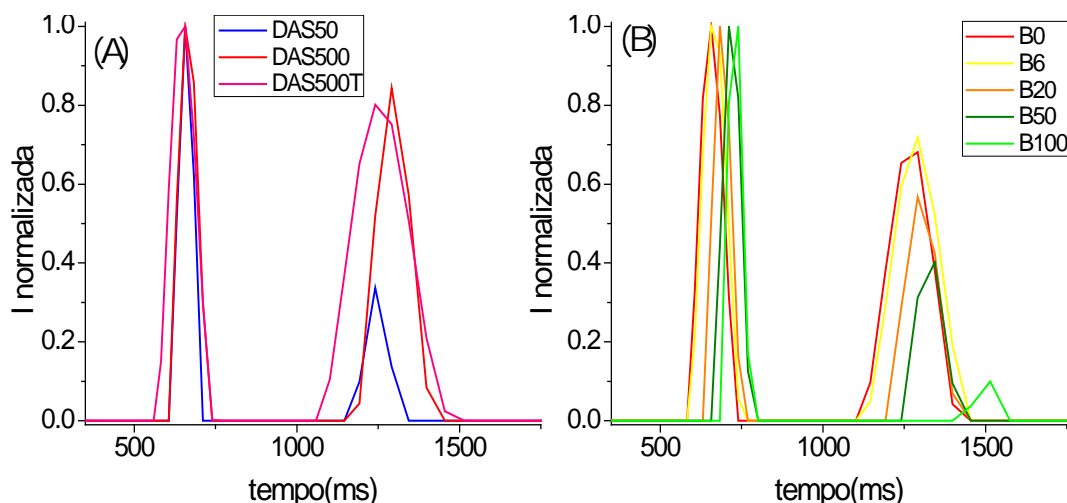


Figura 41 Espectros de relaxometria (ILT). (A) Amostras puras de Deseis AS500 e AS50 (B) Misturas Bx de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500.

A adição do biodiesel ao petrodiesel influencia no perfil do primeiro e segundo domínio de tempo das misturas Bx. No primeiro domínio de tempo das misturas Bx o incremento de biodiesel desloca o eixo x para maiores tempos de relaxação, já o segundo domínio de tempo desloca T_2 para valores maiores e também aumenta a amplitude do sinal de T_2 (Figura 41 (B)).

De modo a evitar uma repetição cansativa dos processos de modelagens das PLS, o resumo dos principais parâmetros dos modelos construídos foi sintetizado na tabela 13. Todos os modelos foram construídos com o mesmo número de amostras e na mesma concentração dos modelos de PLS de biodiesel metílico de soja em Diesel AS500, embora pequenas diferenças nas concentrações das amostras tenham ocorrido, já que as amostras foram preparadas em laboratório por meio de pesagem manual. Além disso, como as curvas de relaxação transversal apresentaram linearidade superior e erros relativos menores do que a PLS desenvolvida com os espectros de relaxometria, os modelos apresentados a seguir foram desenvolvidos somente a partir das curvas de T_2 .

Os modelos de PLS desenvolvidos com diferentes fontes de biodiesel e Diesel apresentaram características similares. Os cinco modelos desenvolvidos (Tabela 13)

foram bem explicados com cinco variáveis latentes, e a aplicação dos pré-processamentos normalização e alisamento foram eficazes para minimizar os erros de previsão. Os coeficientes de correlação apresentaram valores superiores a 0.99, indicando a alta correlação entre Bx e as curvas de relaxação transversal em todos os modelos desenvolvidos (Tabela 13). O modelo identificado como P3 (Tabela 12) apresentou duas amostras (amostras 2 e 13) com comportamento anômalo. A amostra de número 2 de concentração B2 apresentou valor de resíduos estudatizados igual a 3,2, valor superior ao tabelado de 2,5, provavelmente esta amostra teve problemas de concentração durante seu preparo. Já amostra de número 13 de concentração B13, ultrapassou o valor máximo de *leverage* de 0.35, tal fato provavelmente está relacionado a um erro experimental de medida no RMN em baixo campo.

Tabela 13. PLS desenvolvidos para previsão do teor de Bx com fontes diversas de biodiesel e Diesel.

Modelo PLS	Fonte de biodiesel	Fonte de Diesel	Número de VL's	Amostras anômalas	Pré-processamento	R ²	RMSECV
P1	BMETSO	AS500	5	0	normalização e alisamento	0,999	1,08
P2	BMETSO	AS50	5	0	normalização e alisamento	0,998	1,66
P3	BETSO	AS500	5	2*	normalização e alisamento	0,999	1,09
P4	BETSO	AS50	5	0	normalização e alisamento	0,994	3,27
P5	BMETPAL	AS50	5	0	Normalização e alisamento	0,999	1,59

* As amostras anômalas do modelo P3 foram a 2 e 13 da tabela 8.

O desempenho de predição dos modelos desenvolvidos foi testado por meio de um conjunto de amostras reservados para a validação externa, ou seja, amostras que não participaram do conjunto de calibração. Os erros relativos médios dos cinco modelos PLS desenvolvidos, P1, P2, P3, P4 e P5, apresentaram valores entre 7,53 a 11,06. Enquanto que o desvio padrão variou entre 0,30 a 0,57, para os modelos P1, P3, P4 e P5, sendo que apenas o modelo P2 apresentou maior dispersão dos dados analisados, ou seja, o desvio padrão do modelo P2 foi de 1,83 (Tabela 14). Ainda por meio da Tabela 14 é possível observar os maiores erros de previsão para as amostras B3, ou seja, quanto menor a concentração de biodiesel nas amostras menos sensível o método se torna, comportamento esperado para qualquer método analítico. Deste modo, por meio da análise dos erros relativos e do desvio padrão foi possível detectar um comportamento similar entre os modelos desenvolvidos e adequado para aplicação na determinação do teor de Bx.

Tabela 14. Resultados da previsão do teor Bx dos conjuntos de amostras da validação externa, para modelos P1, P2, P3, P4 e P5 construídas a partir das curvas de T₂.

PLS Biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 - Modelo P1														
Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Média	Desvio padrão (s)	Erro relativo médio (%)
Ver Tabela 10														
PLS Biodiesel metílico de soja em Diesel AS500 - Modelo P2														
B3-a	2,99	3,06	0,07	2,3	0,07	B3-b	8,25	8,29	0,04	0,51	0,04	5,67	3,70	1,38
B5-a	5,05	8,29	3,24	64,2	3,24	B5-b	4,99	4,59	-0,40	8,00	0,40	6,44	2,62	36,1
B9-a	8,94	9,84	0,90	10,07	0,90	B9-b	9,06	10,5	1,44	15,9	1,44	10,2	0,47	13,0
B12-a	12,0	14,6	2,62	21,8	2,62	B12-b	12,0	13,6	1,60	13,3	1,60	14,1	0,73	17,6
B25-a	25,0	23,7	-1,27	5,08	1,27	B25-b	25,0	25,6	0,62	2,47	0,62	24,7	1,33	3,77
B45-a	45,0	43,6	-1,41	3,12	1,41	B45-b	45,0	47,4	2,41	5,35	2,41	45,5	2,68	4,24
B70-a	70,0	71,	1,94	2,78	1,94	B70-b	70,0	70,1	0,03	0,05	0,03	71,0	1,32	1,41
												Soma	12,84	77,4
												Média	1,83	11,1
PLS Biodiesel etílico de soja em Diesel AS500 - Modelo P3														
Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Média	Desvio padrão (s)	Erro relativo médio (%)
B3-a	3,00	4,23	1,23	41,0	1,23	B3-b	3,00	4,73	1,73	57,7	1,73	4,48	0,35	49,3
B5-a	5,00	4,71	-0,29	5,80	0,29	B5-b	5,00	4,43	-0,57	11,4	0,57	4,57	0,20	8,60
B9-a	9,00	9,60	0,60	6,67	0,60	B9-b	9,02	9,96	0,94	10,4	0,94	9,78	0,25	8,54
B12-a	12,0	11,8	-0,20	1,67	0,20	B12-b	12,0	11,7	-0,30	2,50	0,30	11,8	0,07	2,08
B25-a	24,9	25,8	0,90	3,60	0,90	B25-b	24,9	25,2	0,30	1,20	0,30	25,5	0,42	2,40
B45-a	44,9	44,1	-0,03	0,08	0,03	B45-b	44,9	44,9	-0,03	0,08	0,03	44,5	0,54	0,10
B70-a	70,0	70,5	0,47	0,67	0,47	B70-b	70,0	70,1	0,11	0,15	0,11	70,3	0,26	0,41
												Soma	2,10	71,5
												Média	0,30	10,2

PLS Biodiesel etílico de soja em Diesel AS50 - Modelo P4														
Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Média	Desvio padrão (s)	Erro relativo médio (%)
B3-a	2,94	1,73	-1,21	41,2	1,21	B3-b	3,03	1,43	-1,60	52,8	1,60	1,58	0,21	47,0
B5-a	5,07	5,18	0,11	2,17	0,11	B5-b	4,99	5,28	0,29	5,81	0,29	5,23	0,07	3,99
B9-a	9,00	9,20	0,20	2,22	0,20	B9-b	8,99	8,68	-0,31	3,45	0,31	8,94	0,37	2,84
B12-a	12,0	12,4	0,40	3,33	0,40	B12-b	12,0	13,7	1,70	14,2	1,70	13,1	0,92	8,75
B25-a	25,0	26,7	1,70	6,80	1,70	B25-b	25,0	25,1	0,10	0,40	0,10	25,9	1,13	3,60
B45-a	45,0	44,4	-0,60	1,33	0,60	B45-b	45,1	45,6	0,50	1,11	0,50	45,0	0,85	1,22
B70-a	70,0	67,4	-2,60	3,71	2,60	B70-b	70,0	67,2	-2,80	4,00	2,80	67,3	0,14	3,86
												Soma	3,69	71,2
												Média	0,53	10,2
PLS Biodiesel metílico de palma em Diesel AS50 - Modelo P5														
Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Bx	Bx real v/v (%)	Bx previsto	Erro absoluto	Erro relativo %	RMSEP	Média	Desvio padrão (s)	Erro relativo médio (%)
B3-a	2,97	4,08	1,11	37,4	1,11	B3-b	3,03	4,11	1,08	35,6	1,08	4,10	0,02	36,5
B5-a	5,14	5,07	-0,07	1,36	0,07	B5-b	4,98	4,60	-0,38	7,63	0,38	4,84	0,33	4,50
B9-a	9,03	8,40	-0,63	6,98	0,63	B9-b	8,98	8,97	-0,01	0,11	0,01	8,69	0,40	3,54
B12-a	11,9	11,6	-0,30	2,52	0,30	B12-b	12,0	11,2	-0,80	6,70	0,80	11,4	0,28	4,59
B25-a	24,9	23,1	-1,80	7,23	1,80	B25-b	24,9	24,7	-0,20	0,80	0,20	23,9	1,13	4,02
B45-a	44,9	44,0	-0,90	2,00	0,90	B45-b	44,9	45,6	0,70	1,56	0,70	44,8	1,13	1,78
B70-a	69,8	70,6	0,80	1,15	0,80	B70-b	69,8	71,6	1,80	2,58	1,80	71,1	0,71	1,86
												Soma	4,01	56,8
												Média	0,57	8,11

5.6 Teste F e teste t de Student para comparação da equivalência do método de RMN em baixo campo versus o método padrão, por infravermelho médio, para previsão dos teores de Bx.

Após desenvolver um novo método analítico para a determinação de Bx, por meio da RMN em baixo campo aliada a calibração multivariada, e este ser testado quanto a sua capacidade preditiva, o próximo passo foi confrontar o método padrão, por infravermelho, e o método proposto, por RMN em baixo campo.

Para a comparação dos desvios padrão entre os métodos para determinação do teor de Bx, foi aplicado o teste F ao conjunto de dados das amostras utilizadas para a validação externa do modelo PLS P1, no nível de confiança de 95 %. Os dados de desvios padrão e diferenças entre médias estão registrado na tabela 15. O teste F é utilizado para comparar a precisão entre um conjunto de amostras independentes, ou seja, compara a precisão de um dado conjunto de amostras medidas por meio de métodos analíticos diferentes, a partir da razão entre as variâncias (s^2) de dois grupos de dados analíticos (equação 17)^{76, 77}.

$$F = s_1^2 / s_2^2 \quad (17)$$

Onde: s_1^2 e s_2^2 representam a somatória das variâncias ao quadrado dos métodos comparados, método A e método B, sendo que $s_1^2 > s_2^2$.

Pela análise das diferenças entre médias foi possível observar que o método padrão, por infravermelho, resultou em previsão de teores de Bx superiores ao método proposto. Já a comparação entre os desvios padrão médio demonstra que o método proposto proporciona uma maior dispersão dos dados que o método por infravermelho. Por outro lado os valores de desvio padrão médio para ambos métodos na média estão bastante similares, ou seja, 0,360 e 0,546 para os métodos por infravermelho e RMN em baixo campo respectivamente.

Assim, a partir dos dados da tabela 15 foi aplicado o teste F, para avaliar a precisão dos métodos na determinação do teor de Bx. O valor de F calculado foi de 3,14, sendo portanto inferior ao valor de F tabelado de 3,73, possibilitando inferir que o método proposto neste trabalho, com 95 % de confiança, não apresenta variância significativa quando comparado ao método padrão, ou seja, a precisão de ambos os métodos são estatisticamente equivalentes.

Tabela 15. Média do Teor de Bx, desvios padrão, diferenças entre médias dos métodos padrão (infravermelho) e método por RMN em baixo campo, para determinação do teste F, utilizando o modelo PLS P1.

Mistura Bx	[Bx real] % (v/v)	Método padrão (infravermelho)		Método proposto (RMN em baixo campo)		Diferença entre as médias ($x_1 - x_2$)
		Média (x_1)	D.P*	Média (x_2)	D.P*	
B3	3,05	4,865	0,247	3,405	1,20	1,5
B5	5,01	6,715	0,431	4,590	0,184	2,1
B9	9,02	10,39	0,353	9,815	0,247	0,6
B12	12,0	13,35	0,212	11,30	0,424	2,1
B25	25,5	25,95	0,566	25,50	0,424	0,4
B45	45,0	45,75	0,354	44,85	1,06	0,9
B70	69,9	70,55	0,354	70,30	0,283	0,3
		D.P. médio	0,3596	D.P. médio	0,546	
F calculado = 3,14						
F _{6,6} 95% tabelado= 4,28						

*D.P. = desvio padrão

Como o teste F demonstrou que os desvios padrão do método de ambos os métodos são semelhantes foi possível fazer a comparação entre as médias dos métodos, por meio do teste t de Student. O teste t é usado para comparar grupos de medidas, com o objetivo de determinar se os métodos analíticos diferem entre si^{77, 78}.

O teste t pareado, calculado a partir da equação 18, foi aplicado ao conjunto de amostras de validação externa do modelo P1, modelo PLS de misturas contendo biodiesel metílico de soja em Diesel AS500. Deste modo, as amostras identificadas como B3, B5, B9, B12, B25, B45 e B70 foram analisadas em duplicatas pelo método padrão e método por RMN em baixo campo. A tabela 16 lista as médias dos teores de Bx para ambos os métodos e suas respectivas diferenças entre médias (di).

$$t = \frac{\text{média } di}{sd/\sqrt{N}} \quad (18)$$

Onde: sd é o desvio padrão da diferença entre médias dos métodos e N é o número de amostras Bx. O cálculo de sd é dados segundo a equação 19.

$$sd = \sqrt{\frac{di^2 - ((\sum di)^2/N)}{N - 1}} \quad (19)$$

O valor crítico de t com seis graus de liberdade e ao nível de confiança de 95 % é tabelado com o valor de 2,45, já o valor de t calculado foi de 3,81 (Tabela 16). Já que t calculado > t tabelado é possível inferir que os dois métodos fornecem resultados diferentes.

O teste t pareado indicou que as médias dos resultados obtidos para os padrões de Bx (B3, B5, B9, B12, B25, B45 e B70) preparados em laboratório, via pesagem em balança analítica, apresentaram diferenças significativas entre os resultados previstos pelos métodos padrão e proposto. Esse resultado pode estar associado à diferença dos resultados obtidos pelos dois métodos em relação ao teor de Bx real (Tabela 16), já que o valor de Bx previsto pelo método padrão resultou em valores superiores ao teor de Bx real, bem como, o método padrão resultou em valores de Bx superiores aos teores de Bx previstos pelo modelo proposto.

Tabela 16. Teste t pareado para comparação das médias entre o método padrão e o método proposto P1.

Amostras Bx		[Bx real] % v/v)	Média [Bx] (infravermelho)	Média [Bx] RMN em baixo campo	di*	di ²
1	B3	3,05	4,865	3,405	1,460	2,1316
2	B5	5,01	6,715	4,590	2,125	4,5156
3	B9	9,02	10,39	9,815	0,5750	0,3306
4	B12	12,0	13,35	11,30	2,050	4,202
5	B25	25,5	25,95	25,50	0,4500	0,2025
6	B45	45,0	45,75	44,85	0,9000	0,8100
7	B70	69,9	70,55	70,30	0,2500	0,0625
Média					1,116	1,751
Somatório					7,810	12,26
D.P.**					0,7683	1,913
t calculado = 3,81						
t ₆ tabelado, 95 %= 2,45						

* di: diferença entre média do método A e método B

** D.P.: desvio padrão

5.7 Análise de Amostras Comerciais (Deseis adquiridos em postos de combustíveis na cidade de Curitiba).

Amostras comerciais de combustível de misturas Bx foram analisadas e as curvas de T_2 obtidas foram submetidas aos modelos de PLS desenvolvidos anteriormente, assim as curvas de T_2 obtidas foram utilizadas nos modelos P1, P2, P3, P4 e P5 (Tabela 14), para prever o teor de Bx, as quais conforme regulamentação vigente deverão apresentar teor Bx de 5% (v/v).

Os teores de Bx em amostras comerciais obtidos pelo método proposto apresentaram-se bastante distorcidos (Tabela 17), com erros de previsão extremamente elevados. Tal resultado já era esperado, uma vez que os resultados para determinação do teor de Bx obtidos por meio dos métodos quimiométricos, PLS, empregando a técnica de RMN em baixo campo, evidenciaram a necessidade do pré-conhecimento da origem do biodiesel e do petrodiesel na mistura Bx a ser analisada. Assim, o desconhecimento da composição das misturas Bx inviabiliza a adequada previsão dos teores de biodiesel no Diesel em amostras comerciais, ao menos daquelas adquiridas em postos de combustíveis.

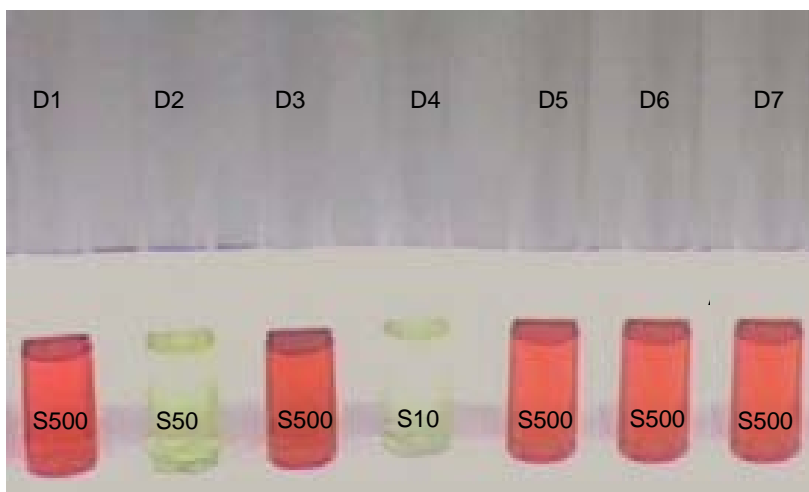


Figura 42 Amostras comerciais de misturas Bx adquiridas em postos de combustíveis da cidade de Curitiba.

Além do desconhecimento da fonte do biodiesel e Diesel utilizados na mistura Bx, adquirida no comércio local, por meio da figura 42 é possível visualizar que as misturas Bx compostas de Diesel AS5500 (misturas denominadas BS500) sofreram a adição de corantes, exatamente para que seja possível a diferenciação de misturas compostas por Diesel AS50 e Diesel AS500. Deste modo, a presença de corantes e outros aditivos e

substâncias que podem ter sido incorporados às misturas Bx podem alterar a mobilidade molecular do combustível analisado e, com isso, o perfil das curvas de relaxação do mesmo, bem como poderão afetar a robustez do modelo PLS desenvolvido.

Tabela 17. Resultados obtidos para a previsão do teor de Bx de amostras comerciais de misturas Bx, para o método padrão (infravermelho) e modelos PLS P1, P2, P3, P4 e P5.

Amostras comerciais de Bx	[Bx] previsto (infravermelho)	[Bx] previsto (P1)	[Bx] previsto (P2)	[Bx] previsto (P3)	[Bx] previsto (P4)	[Bx] previsto (P5)
D1	3,48	-34.9	-25.5	-35.4	8.19	-24.1
D2	5,01	-30.8	-76.1	-31.2	0.08	-22.6
D3	4,93	42.8	5.94	42.2	-6.45	3.94
D4	4,95	-40.9	-85.3	-41.2	5.44	-26.3
D5	4,64	55.5	8.58	55.2	-28.7	10.7
D6	4,57	-28.8	-76	-29.4	-3.13	-22.1
D7	4,70	57.6	29.9	56.9	16.6	18.3

Os valores previstos pelo método padrão para as amostras D2 a D7 apresentaram valores muito próximos ao teor esperado de Bx comercializados atualmente, B5 (tabela 17). Ao confrontar os valores previstos de Bx, pelo método padrão, para as amostras do modelo PLS-P1 observamos que os resultados previstos de B25 a B70 apresentaram valores muito próximos aos valores previstos pelo modelo P1. Enquanto que, para amostras preparadas em concentrações abaixo de B25 as diferenças entre as médias previstas pelos métodos padrão e proposto apresentaram diferenças significativas, tanto que o teste t resultou em um valor de t calculado superior ao valor de t tabelado. Assim, podemos inferir que a exatidão do método padrão pode ter sido comprometida pela concentração das amostras preparadas em laboratório, ou seja, erros de pesagem por uso de balança analítica não calibrada pode ter gerado valores de Bx real incorretos, o que pode ser observado pelos valores previstos pelo método de infravermelho.

6. CONCLUSÕES.

Por meio dos resultados obtidos, foi possível concluir que:

6.1 *Influência da temperatura nos experimentos de RMN em baixo campo.*

A temperatura da amostra possui grande influência nas medidas de relaxação transversal, indicando a importância de um rigoroso controle de temperatura na RMN em baixo campo. As curvas de relaxação por T_2 , tanto para biodiesel quanto para Diesel são alteradas por variações na temperatura durante o experimento. Sendo assim, é necessário que a temperatura das amostras permaneça estável durante os experimentos, bem como todas as medidas das amostras devem ser obtidas exatamente na mesma temperatura.

6.2 *Análises exploratórias por PCA e HCA.*

Análises exploratórias por PCA e HCA evidenciaram que os modelos desenvolvidos a partir das curvas de T_2 são mais sensíveis a alterações na composição química das amostras do que os espectros de relaxometria e, portanto, mais adequados para o desenvolvimento do método de quantificação do teor de biodiesel no Diesel mineral. Tal fato indica que aplicação da ILT às curvas de T_2 implica em perda de dados durante o seu processamento, como consequência observamos melhores resultados para a fase de análises exploratórias a partir das curvas de relaxação transversal.

Por meio da análise de componentes principais puderam ser observadas diferenças características nas curvas de relaxação dos núcleos de ^1H de amostras de óleos vegetais, biodieseis e Deseis. Por meio da PCA e HCA foi possível discriminar as amostras em três conjuntos, um contendo as distintas fontes de biodiesel, outro contendo os Deseis e ainda um com as amostras de óleos vegetais. Apesar das amostras de biodieseis terem sido segregadas das amostras de Diesel, a análise exploratória evidenciou a semelhança na mobilidade molecular, principalmente entre as amostras de biodiesel e Diesel AS50. Tal fato pôde estar associado ao fato do Diesel AS50 passar pelo processo de dessulfurização, o qual diminui a quantidade de hidrocarbonetos aromáticos e olefínicos. Porém a HCA foi capaz de diferenciar totalmente as amostras de Deseis AS500 e AS50 dos biodieseis. Ainda por meio da HCA foi possível observar o agrupamento das amostras de biodieseis metílicos de acordo com sua composição química, ou seja, amostras de biodieseis metílicos de soja ficaram alocadas próximas aos biodieseis de girassol ambos com altos teores de ésteres poliinsaturados, e um grupo formado por biodieseis metílicos de palma e oliva, ambos com altos teores de C18:0.

6.3 Modelos univariados para determinação do teor de Bx.

Os modelos univariados obtidos por meio da correlação das amplitudes dos sinais, extraídas das curvas de relaxação, apresentam baixa correlação com teores reais de Bx, ocasionando em altos erros de previsão, principalmente para faixas baixas de concentração de Bx.

6.4 Modelos multivariados (PLS) para determinação do teor de Bx.

Os modelos multivariados empregando as curvas de relaxação transversal e os espectros de relaxometria apresentaram maior precisão quando comparados com os modelos univariados. No entanto, os modelos de calibração construídos a partir das curvas de T_2 , apresentaram erros relativos médios menores. Como as diversas fontes de biodieseis e Deseis apresentam mobilidades moleculares distintas, foi necessário desenvolver modelos de calibração distintos para cada fonte de biodieseis e Deseis. Os modelos PLS, obtidos a partir das curvas de decaimento de T_2 , com cinco variáveis latentes e utilizando os pré-processamentos normalização e alisamento com uma janela de três pontos, apresentaram os maiores coeficientes de correlação e originaram os menores erros de previsão. Assim, foi observado que a predição de Bx foi efetiva quando aplicada às misturas preparadas a partir dos mesmos combustíveis utilizados no desenvolvimento dos modelos multivariados.

6.5 Comparação dos métodos oficial e proposto neste trabalho para previsão do teor de Bx, por meio do teste F e teste t de Student.

O modelo desenvolvido por RMN em baixo campo é estatisticamente equivalente ao método padrão por espectroscopia de infravermelho, a um nível de confiança de 95 %, pois não apresentou variância significativa, conforme o teste F. No entanto, o teste t pareado indicou que a 95 % de confiança as médias previstas pelo método padrão e o método proposto são significativamente diferentes.

6.6 Previsão dos teores de Bx em amostras comerciais, a partir dos modelos PLS desenvolvidos.

Os modelos de calibração multivariados por PLS apresentaram elevados erros de previsão do teor de biodiesel em amostras comerciais de misturas B5, adquiridos em postos de combustível de Curitiba. Isso se deve principalmente ao fato da necessidade de conhecer a fonte de biodiesel e Diesel que compõem a mistura Bx. Desta forma, são necessárias, maiores investigações visando à aplicação comercial do método desenvolvido.

7. PERSPECTIVAS.

A possibilidade do desenvolvimento de um método de quantificação do teor de Bx por RMN em baixo campo foi o principal objetivo deste trabalho. A partir deste, vários aspectos puderam ser destacados pelo emprego da RMN em baixo campo na investigação de amostras de biodieseis e Deseis. Assim, ao longo dos trabalhos alguns pontos relevantes para concluir o desenvolvimento de um método de determinação de Bx a partir da RMN em baixo campo poderiam ser analisados, tais como:

- Estudos com modelos multivariados para previsão do teor de Bx a partir de padrões preparados com balanças analíticas calibradas e/ou vidrarias calibradas. Deste modo, seria possível reanalisar os desempenhos dos métodos comparados neste trabalho, por meio do teste t de Student.

- Aquisição dos dados de relaxação transversal de misturas Bx em temperaturas mais baixas, neste trabalho a aquisição dos dados foi realizada a 37 °C, para desenvolver modelos multivariados para determinação do teor de Bx. Visto que, a viscosidade dos Deseis e biodieseis a 37 °C se tornam muito similares, um fator que pode dificultar o desenvolvimento de modelos de quantificação, principalmente para baixas concentrações.

- Estudos orientados ao desenvolvimento de métodos multivariados, via RMN em baixo campo, com amostras de Deseis e biodieseis de fontes diversas e ainda que contenham os corantes e aditivos presentes comerciais para verificar seu impacto na mobilidade molecular das misturas investigadas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano Nacional de Agroenergia 2006-2011. Embrapa Informação Tecnológica , 2006. 20 edição. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: junho de 2010.
2. Lei Federal nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nos 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. Disponível em: <http://www legisweb.com.br>, acessado em 19 de março de 2011.
3. Embrapa, Crestana, Sílvia; Matérias-primas para Produção do Biodiesel: Priorizando Alternativas, 2005. Disponível em: <http://www.embrapa.br>. Acesso em: setembro de 2010.
4. Resolução ANP nº 14 de 11/05/2012. Disponível em: <http://www legisweb.com.br>, acessado em 04 de junho de 2012.
5. Pesquisa ao banco de dados da *Science Direct* com a palavra chave biodiesel. Disponível em: <http://www.embrapa.br>. Acesso em: fevereiro de 2013.
6. ABNT NBR 15.568/2008 Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2008.
7. Boletim Mensal da Qualidade dos Combustíveis Líquidos Automotivos Brasileiros - ANP – agosto de 2012. Disponível em: <http://www.anp.gov.br>. Acesso em: setembro de 2012.
8. Zawadzki, A.; Shrestha, D. S.; He, B.; Biodiesel blend level detection using ultraviolet absorption spectra. American Society of Agricultural and Biological Engineers, v. 50. P. 1349-1353, 2007.
9. Prestes. R. A.; Colnago, L. A.; Forato, L. A.; Vizzotto, L.; Novotng, E. H.; Carrilho, E., A rapid and automated low resolution NMR method to analyse oil quality in intact oil seeds. *Analytica Chimica Acta*. V. 596; p.325-329, 2007.
10. Dalitz, Franz; Cudaj, Markus; Maiwald, Michael; Guthausen, Gisela, Process and reaction monitoring by low-field NMR spectroscopy. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 60, p. 52-70, 2012.
11. COSCIONE, A.R.; O uso de calibração multivariada para determinação espectrofotométrica simultânea de alumínio e ferro: aplicação na análise de plantas e solos. Tese de Doutorado, IQ-UNICAMP, 2001.

12. Revista BiodieselBR; História e Biodiesel, D. L. Gazzoni. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/biodiesel>, acessado em 20 de outubro de 2011.
13. History and policy of biodiesel in Brazil. Gabriella P.A.G. Pousa, Andre' L.F. Santos, Paulo A.Z. Suarez.]
14. Portal Brasil. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/sobre/economia/energia>. Acesso em: dezembro de 2013.
15. Rinaldi, Roberto; Garcia, Camila; Marciniuk, Letícia Ledo; Rossi, Adriana Vitorino; Schuchardt; Schuchard, Ulf. Síntese de biodiesel: uma proposta contextualizada de experimento para laboratório de química geral. Quim. Nova, Vol. 30, No. 5, 1374-1380, 2007.
16. Shay, E.G., 1993. Diesel fuel from vegetable-oils—status and opportunities. Biomass Bioenergy 4, 227–242).
17. Lima, Paulo César Ribeiro, 2005. Biodiesel: Um novo combustível para o Brasil. Disponível em: <http://bd.camara.gov.br>. Acesso em maio de 2012.
18. Luiz Pereira Ramos. Sobre Definição técnica do biodiesel em as colunas de Luiz Pereira Ramos na Revista biodiesel.com. Disponível em: <http://biodieselbr.com/colunistas>. Acesso em: janeiro de 2012.
19. Monteiro, M.; Ambrozini, A. R. P.; Lião, L. M.; Boffo, E. F.; Ferreira, M. M. C.; Ferreira, G. Determinação de biodiesel no diesel mineral utilizando RMN de ¹H e métodos quimiométricos. 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008.
20. Cheng, J.J.; Timilsina, G.R. Status and barriers of advanced biofuel Technologies: a review, *Renew. Energy* 2011; 36:3541-9
21. Lôbo, Ivon Pinheiro; Ferreira, Sérgio Luis Costa; Cruzll, Rosenira Serpa. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. Quím. Nova vol.32 no.6 São Paulo 2009
22. Oliveira, Flavia C. da C.; Suarez, Paulo A. Z.; Santos, Wildson Luiz Pereira. Biodiesel: Possibilidades e desafios. Quim. Nova, Vol.30, nº.8, 2068-2071, 2007.
23. Ramos, L. P.; Conversão de óleos vegetais em biocombustível alternativo ao diesel convencional. In: Congresso brasileiro de soja 1999, Londrina. Anais Londrina: Embrapa-Soja, 1999. p.233-236.
24. Knothe, G.; Gerpen, J. Van; Krah, J., The Biodiesel Handbook. 10 edição, editor AOCS Press, Illinois, 2005.
25. McMURRY, J. Química Orgânica. Trad. J.A. e Souza. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1997. v. 2.

26. Soares, Paulo A. Z.; Meneghetti, Simoni M. Plentz; Meneghetti, Mario R.; Wolf, Carlos R., Transformação de Triglicerídeos em Combustíveis, Materiais Poliméricos e Insumos Químicos: Algumas Aplicações da Catálise na Oleoquímica. *Quim. Nova*, V. 30, No. 3, 667-676, 2007.
27. Boletim Mensal da Qualidade dos Combustíveis Líquidos Automotivos Brasileiros - ANP – Outubro de 2012. Disponível em: <http://www.anp.gov.br>. Acesso em: novembro de 2012.
28. Speight, James G., *The Chemistry and Technology of Petroleum*, 40 ed., California, editora CRC Press, 2006.
29. Cardoso, Luiz Cláudio, *Petróleo do Poço ao Posto*. 10 ed., Ed. Qualitymark, 2006.
30. PETROBRAS; Óleo Diesel. Disponível em: www.br.com.br, acessado em 20 de setembro de 2010.
31. Moser, Bryan R. Efficacy of specific gravity as a tool for prediction of biodiesel-petroleum diesel blend ratio. *Fuel* 99, 254-261, 2012.
32. Revista biodieselbr. Emissões de enxofre são cancerígenas. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/biodiesel>, acessado em outubro de 2012.
33. PETROBRAS: Óleo Diesel. Disponível em: www.br.com.br, acessado em 20 de setembro de 2010.
34. Resolução ANP nº 65 de 09/12/2011. Disponível em: <http://www.legisweb.com.br>, acessado em 16 de março de 2012.
35. Aliske, M. A.; Zagonel, G. F.; Costa, B. J.; Veiga, W.; Saul, C. K. Measurement of biodiesel concentration in a diesel oil mixture. *Fuel* 86: 1461, 2007.
36. Knothe, G. Determining the blend level of mixtures of biodiesel with conventional diesel fuel by fiber-optic near-infrared spectroscopy and H-1 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78: 1025, 2001a.
37. Pierce, Karisa M.; Schale, Stephen P., Predicting percent composition of blends of biodiesel and conventional diesel using gas chromatography-mass spectrometry, and partial least squares analysis. *Talanta* v. 83, p. 1254-1259, 2011.
38. Faria, Rita C. M.; Rezende, Michelle J. C.; Rezende, Claudia M. e Pinto, Angelo, C., Desenvolvimento e validação de metodologia de análise de misturas biodiesel:diesel utilizando cromatografia gasosa-espectrometria de massas. *Química Nova*, v. 30, p. 1900-1905, 2007.

39. Scherer, Marisa D.; Oliveira, Samuel L.; Lima, Sandro M.; Andrade, Luis H. C. e Caires, Anderson R. L., Determination of the Biodiesel content in Diesel/Biodiesel blends: A method based on Fluorescence Spectroscopy. *J. Fluoresc*, v. 21, p. 1027-1031, 2011.
40. Caires, A. R. L.; Lima, V. S.; Oliveira, S. L., Quantification of biodiesel content in diesel/biodiesel blends by fluorescence spectroscopy: Evaluation of the dependence on biodiesel feedstock. *Renewable Energy*, v. 46, p. 137-40, 2012.
41. Ghesti, G. F.; Macedo, J. L.; Resck, I. S.; Dias, J. A.; Dias, S. C. L. FT-Raman spectroscopy Quantification of Biodiesel in a Progressive Soybean Oil Transesterification Reaction and Its Correlation with ¹H NMR Spectroscopy Methods. *Energy & Fuel* 21: 2475, 2007.
42. Monteiro, M.; Ambrozini, A. R. P.; Lião, L. M.; Boffo, E. F.; Ferreira, M. M. C.; Ferreira, G. Determinação de biodiesel no diesel mineral utilizando RMN de ¹H e métodos quimiométricos. 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008.
43. Guarieiro, Lílían Lefol Nani; Pinto, Angelo C.; Aguiar, Paula Fernandes de; Ribeiro, Núbia Moura, Metodologia Analítica para Quantificar o Teor de Biodiesel na Mistura Biodiesel/Diesel Utilizando Espectroscopia na Região do Infravermelho. *Quim. Nova*, Vol. 31, No. 2, 421-426, 2008
44. Todt, H.; Guthausen, G.; Burk, W.; Schmalbein, D. Kamlowksi, A. Water/moisture and fat analysis by time-domain NMR. *Food Chem.* 96: 436, 2006.
45. Vollhardt, K. Peter C. e Schore, Neil E..*Química Orgânica estrutura e função*. Ed. Bookman 4. Ed,
46. Silverstein, M. Robert; Webster, X. Francis; Kiemle, J. David, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7 ed., Rio de Janeiro, editora LTC, 2006.
47. Skoog, Douglas A.; Holler, F. James; Nieman, Timothy A.. *Princípios de Análisis Instrumental*, 50 ed., Madrid, Ed. Mc Graw Hill, 2001.
48. Corrêa, Cátia Crispilho. Análise da qualidade de carne bovina por Ressonância Magnética Nuclear em baixa resolução. Dissertação, IQ-São Carlos, 2007.
49. Gil, Victor M. S.; Geraldês, F.G.C. Carlos. *Ressonância Magnética Nuclear: fundamentos, métodos e aplicações*. 2^o edição, editora da fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 2002.
50. BRUKER, *mq Relaxation Time Manual*, version .1.0. Bruker Optik GmbH minispec Division Silberstreifen, Germany, 2006.

51. Coates, G.; Xiao L.; Prammer, M. G., NMR Logging: Principles and Applications. Halliburton Energy Services, 1999.
52. Rutledge, D. N. "Low resolution pulse nuclear magnetic resonance in agro-food industry", Journal of Chemistry Physics, 89, 273, 1992.
53. Claridge, D. W. Timothy. High Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry. 10 edição, editora Pergamon, SP, 1999.
54. Traficante, D.D., Relaxation: An Introduction. Concepts in Magnetic Resonance: p. 12-26.
55. Bathista, A. L. B. S. Princípios Básicos de Ressonância Magnética Nuclear do Estado Sólido. São Carlos, 2005.
56. Prestes, Aparecida Prestes; Pinheiro, Luís Antonio; Almeida, Denise Milléo Almeida; Sauer, Elenise; Carrilho, Emanuel, Colnago, Luiz Alberto. Detecção de doença de plantas por Ressonância Magnética Nuclear em Baixa Resolução. Congresso agropecuário, Industrial e tecnológico do Paraná, 12 a 15 de setembro de 2012.
57. Latorraca, G.A.; Dunn, K.J.; Webber, P.R.; Carlson, R.M. Low-field NMR determinations of the properties of heavy oils and water-in-oil emulsions. Magnetic Resonance Imaging, Vol. 16, N^{os}. 5/6, pp. 659–662, 1998.
58. Medeiros, Everaldo Paulo; Feliz, Poliana Harlanne Dantas; Melo, Julia Karla A.; Barreto, Aurelir Nobre; Nascimento, Joab Josemar Vitor R. Um método não destrutivo por RMN de baixo campo e quimiometria para classificação de sementes de mamona em função do perfil espectral do óleo. III Congresso brasileiro de Mamona, energia e recinoquímica, 2008
59. EVANS, J. N. S. Biomolecular NMR Spectroscopy, Oxford University Press Oxford, 1995.
60. Azeredo, R. B. V.; Colnago, L. A. & Engelsberg, M. "Quantitative analysis using steady-state free precession nuclear magnetic resonance", Analytical Chemistry, 72 (11), 2401, 2000.
61. Honorato, Hercílio D.A.; Silva, Renzo C.; Piumbini, Cleiton K.; Zucolotto, Carlos G.; Souza, André A.; Cunha, Alfredo G.; Emmerich, Francisco G.; Lacerda Jr., Valdemar; Castro, Eustáquio V.R.; Bonagambac, Tito J.; Freitas, Jair C.C.. ¹H low- and high-field NMR study of the effects of plasma treatment on the oil and water fractions in crude heavy oil. Fuel, v. 92, issue1, February 2012, pages 62-68.

62. BRUKER, mq ILT_Contin Manual, version .1.0. Bruker Optik GmbH minispec Division Silberstreifen, Germany, 2006.
63. Kroeker, R. M. & Henkelman, M. "Analysis of Biological NMR Relaxation Data with Continuous Distributions of Relaxation Times", *Journal of Magnetic Resonance*, 69, 218, 1986.
64. Conzen, Jorg-Peter. *Multivariate Calibration: A practical guide for developing methods in the quantitative analytical chemistry*, 2 ed., Bruker Optik GmbH, 2006.
65. Valderma, Patrícia; Braga, Jez W. B.; Poppi, Ronei J.; Estado da arte de figures de mérito em calibração multivariada, v. 32. p. 1278-1287, 2009.
66. Ferreira, M. M. C.; Antunes A. M.; Melgo, M. S., Volpe, P. L. O., "Quimiometria I: Calibração Multivariada, um tutorial", *Quím. Nova*, 22, p. 724-731, 1999.
67. Moita Neto, J. M., Moita, Graziella Ciaramella, *Uma Introdução à Análise Exploratória de Dados Multivariados*, Química Nova, São Paulo, SP: v. 21, n. 4, p. 467-469, 1998.
68. Linden, Ricardo, *Técnicas de Agrupamento*, *Revista de Sistemas de Informação da FSMA*, n. 4, p. 18-36, 2009.
69. NAGATA, N.; *Uso de métodos de calibração multivariada na análise de amostras de interesse industrial e espécies de importância ambiental por fluorescência e raios-X*. Tese de Doutorado, IQ-UNICAMP, 2001.
70. MORGANO, M. A. *Aplicação de métodos quimiométricos em análise de alimentos*. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
71. Harmer, J. R.; Callcott, T. G.; Maeder, M.; Smith, B. E. A rapid coal characterisation analysis by low-resolution NMR spectroscopy and partial least-squares regression. *Fuel* 80, 2001, 1341-1349
72. Pedersen, H.T.; Munck, L.; Engelsen, S.B.. Low-field ^1H nuclear magnetic resonance and chemometrics combined for simultaneous determination of water, oil, and protein contents in oilseeds *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 77 (2000), pp. 1069–1076

73. Pereira, Fabíola Manhas; Carvalho, André de Souza; Cabeça, Luís Fernando; Colnago, Luiz Alberto. Classification of intact fresh plums according to sweetness using time-domain nuclear magnetic resonance and chemometrics. *Microchemical Journal* Volume 108, May 2013, Pages 14–17.
74. ASTM D 445. Standard Test Method for Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (the Calculation of Dynamic Viscosity). *Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 05.01, p. 185-193, 2001.
75. Devroye, L.; Györfi, L.; Krzysak, A.; Lugosi, G.. On the strong universal consistency of nearest neighbor regression function estimates. *Annals of Statistics*, 22, 1371-1385, 1994.
76. Barros Neto, Benício; Pimentel, Maria Fernanda; Araújo, Mario César Ugulino. Recomendações para calibração em química analítica – Parte1. Fundamentos e calibração com um componente (calibração univariada). *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 5, 856-865, 2002.
77. Harris, Daniel C.. *Análise Química Quantitativa*. 7ª edição, Rio de Janeiro, editora LTC, 2011.
78. Skoog, Douglas A.; West, Donald M.; Holler, F. James; Crouch, Stanley R. *Fundamentos de Química Analítica*. Tradução da 8ª edição, São Paulo, Editora Thompson, 2006.